

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MARCUS VINICIUS DE LIZ

ESTUDO DA POTENCIALIDADE DA FOTOCATÁLISE HETEROGÊNEA (TiO_2 e
 ZnO) E DOS PROCESSOS FENTON PARA REMEDIAÇÃO DE ÁGUAS
CONTAMINADAS PELOS ESTROGÊNIOS ESTRONA, 17β -ESTRADIOL E 17α -
ETINILESTRADIOL

CURITIBA

2013

MARCUS VINICIUS DE LIZ

ESTUDO DA POTENCIALIDADE DA FOTOCATÁLISE HETEROGÊNEA (TiO_2 e
 ZnO) E DOS PROCESSOS FENTON PARA REMEDIAÇÃO DE ÁGUAS
CONTAMINADAS PELOS ESTROGÊNIOS ESTRONA, 17β -ESTRADIOL E 17α -
ETINILESTRADIOL

Tese apresentada como requisito parcial à
obtenção do grau de Doutor em Química, no
Curso de Pós-Graduação em Química, Setor de
Ciências Exatas, da Universidade Federal do
Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Patricio G. Peralta-Zamora
Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Noemi Nagata

CURITIBA

2013

Dedico este trabalho à minha família, em especial a Grazi, Fer e Pedro, pela paciência e compreensão nos diversos momentos em que estive ausente. Por me mostrarem que há mais na vida do que eu podia imaginar. Que eu possa ser tão especial para vocês quanto vocês são para mim.

AGRADECIMENTOS

Não sabemos ao certo por que viemos, mas aqui estamos, por isso agradeço a Deus por tudo que tem me permitido realizar nessa breve passagem. Obrigado pelo que tem me proporcionado e espero estar retribuindo a altura as graças que tenho alcançado.

Gostaria de agradecer aos meus amigos, Patrício e Noemi, pela orientação neste trabalho, por confiarem em mim e acreditarem no meu potencial, mesmo sabendo das minhas dificuldades e limitações. Além, é claro, dos ótimos momentos que vivemos juntos nesses anos que se passaram.

Aos professores que contribuíram e contribuirão para a melhoria deste trabalho através de sugestões na qualificação e na banca de defesa, Marco Grassi, Gilberto Abate, Marcio Barreto, Carla Sirtori e Sérgio Toshio.

Aos alunos que me auxiliaram diretamente na realização dos experimentos, permitindo que esse trabalho fosse realizado em um tempo mais breve, Chico, Dani, Ivan, Lídia, Ramon, Belisa, Bianca, Lutécia, Rosângela, Sandra, e especialmente a Jéssica, que foi levada pelos alemães.

Aos colegas do grupo Tecnotrater com quem tive o prazer de conviver durante praticamente cinco anos, com os quais aprendi muito sobre trabalho e convivência em grupo, e de onde levo excelentes recordações e muitos aprendizados, mas não citarei nomes para não ser injusto com ninguém, e porque me esqueci de tomar os remédios para memória.

Aos colegas de LABQAm, alunos e professores, que me proporcionaram um diversificado e excelente ambiente de trabalho e me acolheram com carinho durante o período em que estivemos juntos.

Aos professores Claudio Tonegutti e Sérgio Vaz, que me ensinaram a ser uma pessoa melhor e mais justa.

Ao Prof Mangrich, Mônica, Eduardo (Mascote) e Centro de Microscopia Eletrônica da UFPR, que me auxiliaram na realização de diversas análises para melhor compreensão dos resultados apresentados nesse trabalho.

A UFPR, principalmente ao Departamento de química, por ter me proporcionado uma formação sólida e de qualidade incontestável ao longo dos mais de 12 anos em que fui aluno dessa instituição.

A UTFPR, pela dispensa parcial das atividades, e aos Colegas do Departamento Acadêmico de Química e Biologia que colaboraram de alguma forma para a conclusão do meu doutorado, muito obrigado.

Ao CNPq, a Fundação Araucária e a bolsa pesquisador do Prof Patrício (☺), que proporcionaram aporte financeiro, e que aporte, para que eu pudesse desenvolver esse trabalho.

Gostaria de agradecer também as pessoas que não estavam no laboratório, mas que fizeram parte da minha vida, contribuindo de forma significativa para que esse objetivo fosse alcançado, e por isso são muito especiais.

Aos meus pais, Ivo e Ana, por terem investido em mim uma boa dose de amor, paciência e compreensão. Por terem me ensinado a lutar pelos meus objetivos e sempre acreditarem na minha capacidade.

Aos meus pais de coração, Antônio, Eva, Santana e Maurílio (in memorian) por terem me aceito em suas vidas.

Aos meus irmãos, Marcelo, Maurício e André, que sempre fizeram parte da minha vida, e me ensinaram a dividir as coisas, nem que fosse quebrando ao meio.

Aos meus irmãos de coração, Almir, Roberto, Gilcélia, Sandra e Lutécia, pessoas que estão na minha vida simplesmente por terem sido fantásticas em momentos especiais, e, apesar de alguns serem marrentos e rabugentos, são pessoas boas de coração.

Agradeço especialmente a minha esposa pelo amor, paciência, consideração e apoio incondicional à loucura que é fazer um doutorado com dois filhos e trabalhando. Grazi, sua companhia e dedicação a nossa família fez com que essa etapa pudesse ser concretizada, alimentando cada vez mais meu amor e admiração por você.

Agradeço a Fernanda pela compreensão dos diferentes motivos que fizeram com que diversas vezes tivéssemos menos tempo de convívio do que eu gostaria. Agradeço também por ela compartilhar da ideia de que namoro é para depois da faculdade, com um homem sem alargador na orelha, preservando assim meus cabelos na cor natural.

Agradeço ao Pedro, que mesmo sem entender, por muitas vezes foi privado da minha companhia e mesmo assim me ama.

Peço desculpas pelas muitas vezes que sacrifiquei a família, noites de sono, planos de férias e falta de dedicação a vocês, Grazi, Fer e Pedro, pois acredito que tudo isso nos levará a uma vida mais tranquila daqui para frente.

Espero ainda poder retribuir ao povo brasileiro o investimento feito ao longo de mais de 24 anos na minha formação, todos em escola pública.

RESUMO

Neste trabalho foi avaliada a degradação de estrogênios em solução aquosa e em amostras de esgoto, utilizando-se processos avançados de oxidação fundamentados em fotocatalise heterogênea e processos Fenton. Adicionalmente, foi desenvolvido um método de determinação fundamentado em cromatografia em fase líquida de alta eficiência com detecção ultravioleta e de fluorescência, para determinação dos estrogênios estrona (E1), 17 β -estradiol (E2), estriol (E3) e 17 α -etinilestradiol (EE2) em águas residuais urbanas, e E1, E2 e EE2 para controle analítico nos estudos de degradação.

Estudos de degradação fotocatalítica realizados em escala de bancada permitiram verificar uma elevada eficiência de tratamento dos sistemas fundamentados no uso de TiO₂ e radiação UVC. Entretanto, observou-se que grande parte da degradação foi devida a processos de fotólise (ausência de fotocatalisador), propiciados pela elevada fotossensibilidade dos substratos em estudo. Na presença de radiação de menor energia (UVA) o processo de fotólise foi praticamente suprimido, o que permitiu observar eficiente degradação dos estrogênios em tempos de reação da ordem de 30 min. Em processos assistidos por radiação solar, a fotocatalise mediada por TiO₂ mostrou elevada capacidade de degradação, permitindo a remoção praticamente completa dos estrogênios em tempos de reação de 15 min. Estudos similares foram realizados na presença de ZnO, sendo constatada eficiência de degradação que corresponde a aproximadamente à metade da apresentada pelos sistemas fundamentados no uso de TiO₂. Estudos de degradação realizados na presença de radiação UVA e TiO₂ suportado em anéis de vidro permitiram verificar degradação quase completa dos hormônios, em tratamentos de aproximadamente 60 min. Embora a eficiência de degradação seja inferior à apresentada pelos sistemas que utilizam fotocatalisador em suspensão, em razão da significativa redução de área superficial nos sistemas imobilizados, o uso destas formas suportadas viabiliza o estabelecimento de processos contínuos.

Os processos foto-Fenton aplicados em meio homogêneo apresentaram eficiência de degradação comparável à dos processos fotocatalíticos mediados por TiO₂ em suspensão. O emprego de sistemas heterogêneos mediados pelo uso de ferro imobilizado em quitosana permitiu a degradação praticamente completa dos estrogênios em tratamentos de 90 min, tempo este que foi reduzido para 60 min a partir da segunda vez de uso do catalisador suportado. Estudos mais aprofundados sobre o mecanismo de degradação permitem sugerir a ocorrência de processos homogêneos e heterogêneos, do tipo Fenton, foto-Fenton e *like*-Fenton.

Estudos de degradação de estrogênios em amostras de esgoto fortificadas permitiram verificar remoções da ordem de 85% em processos de fotocatalise mediados por TiO₂ imobilizado e assistidos por radiação UVA. Por sua vez, processos Fenton homogêneos assistidos por luz solar permitiram degradações superiores a 90%.

Este conjunto de resultados permite inferir que processos de fotocatalise mediados por TiO₂ e processos foto-Fenton, assistidos por radiação solar ou artificial, proporcionam uma eficiente degradação dos estrogênios em solução aquosa, inclusive com o uso de fotocatalisadores imobilizados. Trata-se de uma observação relevante, na medida em que vislumbra o desenvolvimento de reatores contínuos de maior porte.

Palavras Chave: Processos avançados de oxidação; Fotocatalise heterogênea; Processos Fenton; Estrogênios; Cromatografia em fase líquida de alta eficiência; Extração em fase estacionária.

ABSTRACT

In this work the degradation of estrogens in aqueous solution and in sewage samples was evaluated, using advanced oxidation processes based on heterogeneous photocatalysis and Fenton processes. Additionally, an analytical method based on high performance liquid chromatography with ultraviolet and fluorescence detection was established for the determination of estrogens estrone (E1), 17 β -estradiol (E2), estriol (E3) and 17 α -ethynilestradiol (EE2) in urban wastewater and E1, E2, and EE2 for analytical control in degradation studies.

Photocatalytic degradation studies carried out in batch scale allowed to verify a high efficiency of the systems based on the use of TiO₂ and UVC radiation. However, it was observed that a large part of the degradation was due to photolysis processes (no photocatalyst), provided by the high photosensitivity of the studied substrates. In the presence of lower energy radiation (UVA) the process of photolysis was virtually suppressed, allowing to observe efficient estrogens degradation in reaction time of about 30 min. In processes assisted by solar radiation, TiO₂-mediated systems shown high degradation capacity, enabling the almost complete degradation of estrogens in reaction times of 15 min. Similar studies were carried out in the presence of ZnO, with results which corresponds to approximately a half of the results showed by the systems based on the use of TiO₂. In degradation studies involving the use of UVA radiation and TiO₂ supported on glass rings the almost complete degradation of the hormones was observed in treatment times of about 60 min. Although the degradation efficiency was lower than that presented by suspended photocatalyst, because of the significant reduction in the surface area for the immobilized systems, the use of these supported forms enables the establishment of continuous treatment processes.

The homogeneous photo-Fenton processes showed degradation efficiency comparable to that of photocatalytic processes mediated by TiO₂ suspensions. The heterogeneous systems using immobilized iron on chitosan allowed the almost complete degradation of estrogens in treatments of 90 min, which this time was reduced to 60 min after the second time use of the supported catalyst. More detailed studies on the degradation mechanism suggest the occurrence of homogeneous and heterogeneous processes involving Fenton, photo-Fenton and Fenton-like.

Degradation studies of estrogens in spiked sewage samples allowed to verify removal of 85% in photocatalysis processes mediated by immobilized TiO₂ and assisted by UVA radiation. On the other hand, homogeneous Fenton processes assisted by sunlight allowed degradations over 90%.

This set of results allows to observe that photocatalysis processes mediated by TiO₂ and photo-Fenton process, assisted by solar radiation or artificial allow an efficient degradation of estrogens in aqueous solution, including the use of immobilized photocatalysts. There is an important feature, which envision the development of continuous and larger size reactors.

Key-words: Advanced oxidation processes; heterogeneous photocatalysis; Fenton process; estrogens; High performance liquid chromatography.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Etapas envolvidas no preparo de amostra por extração em fase sólida SPE.....	31
Figura 2 -	Classificação dos principais processos avançados de oxidação.....	41
Figura 3 -	Representação esquemática dos princípios da fotocatalise heterogênea. (A: Espécie aceptora; D: Espécie doadora).....	42
Figura 4 -	Esquema representativo da reação entre o vidro e os alcóxidos de titânio.....	49
Figura 5 -	Representação esquemática da estratégia de trabalho adotada.....	56
Figura 6 -	Representação do reator fotoquímico de bancada.....	59
Figura 7 -	Fotografia dos reatores fotoquímicos operados com radiação solar.....	60
Figura 8 -	Esquema (A) e vista frontal (B) da unidade de tratamento operada com radiação solar.....	61
Figura 9 -	Representação do reator fotoquímico de bancada para tratamento fotocatalítico com TiO ₂ suportado em anéis de vidro.....	63
Figura 10 -	Representação esquemática do processo de extração em fase sólida (SPE).....	68
Figura 11 -	Cromatograma típico dos estrogênios em estudo (E1, E2 e EE2: 5,0 mg L ⁻¹) e da sua mistura analisada por HPLC-DAD.....	72
Figura 12 -	Curva analítica média (n=7) para E1 (a), E2 (b) e EE2 (c) e sequência de cromatogramas das misturas de calibração (d).....	73
Figura 13 -	Cromatograma da solução padrão dos estrogênios (0,020 mg L ⁻¹).....	75
Figura 14 -	Espectro UV-VIS dos hormônios E1, E2, EE2 e E3.....	75
Figura 15 -	Espectros de fluorescência 3D dos estrogênios de interesse na região onde foram detectados picos de interesse. (A) 17-β-estradiol, (B) 17α-etinilestradiol, (C) estriol e (D) estrona.....	76
Figura 16 -	Representação geométrica do planejamento fatorial utilizado para otimização do sistema de extração de E1 (A), E2 (B) e EE2 (C) (concentração: 10,0 µg L ⁻¹ , n = 3).....	79
Figura 17 -	Recuperação dos hormônios E1, E2 e EE2 para diferentes materiais usados como condutores de soluções de hormônios. Concentração inicial dos hormônios de 20,0 µg L ⁻¹ . (Vidro: n = 3; Teflon n = 6; Silicone: n = 7 (em 3 tipos diferentes); Tygon: n = 3; Polietileno: n = 3; PVC: n = 3).....	81

Figura 18 -	Cromatogramas de E1, E2 e EE2 (0,50 mg L ⁻¹) em MeOH e ACN.....	84
Figura 19 -	Cromatogramas de uma solução contendo os padrões de E1, E2 e EE2 e de amostras da entrada e saída de uma ETE com pré-concentração de 3000 vezes. Detecção por DAD (λ = 197 nm).....	86
Figura 20 -	Cromatogramas de Estriol (E3: 5,00 mg L ⁻¹) em metanol e acetonitrila e dos solventes puros MeOH e ACN.....	87
Figura 21 -	Detalhes de um típico cromatograma de amostra de esgoto natural e fortificado da ETE C.....	89
Figura 22 -	Cromatogramas de amostras de esgoto com detecção por fluorescência aplicando o gradiente 2.....	90
Figura 23 -	Detalhes de um cromatograma de uma amostra de esgoto natural da ETE B com fortificação com 50, 100 e 300 ng L ⁻¹ do hormônio E2.....	92
Figura 24 -	Recuperação de estrogênios (300 mL, 20,0 µg L ⁻¹) a partir de suspensões com TiO ₂ (750 mg L ⁻¹) em processos de filtração utilizando os materiais filtrantes indicados (Condições 1 a 7 descritas no texto).....	94
Figura 25 -	Representação geométrica do planejamento 2 ² para a remoção fotocatalítica do estrogênio E1 frente a radiação (a) UVC e (b) UVA.....	97
Figura 26 -	Superfície de resposta que relaciona a eficiência de degradação de E2 pelo sistema TiO ₂ /UVA em função do pH e da concentração de TiO ₂	98
Figura 27 -	Modificação do perfil cromatográfico durante a fotocatalise (A) e da área integrada durante a aplicação de processos de adsorção, fotólise e fotocatalise heterogênea (B) nos estudos de degradação de estrona com TiO ₂ em suspensão e radiação UVC (estrona: 20,0 µg L ⁻¹ , volume: 220 mL, pH: 7,3, TiO ₂ : 250 mg L ⁻¹).....	101
Figura 28 -	Modificação do perfil cromatográfico durante a fotocatalise (A) e da área integrada durante a aplicação de processos de adsorção, fotólise e fotocatalise heterogênea (B) nos estudos de degradação de 17β-estradiol com TiO ₂ suspensão e radiação UVC (17β-estradiol: 20,0 µg L ⁻¹ , volume: 220 mL, pH: 7,3, TiO ₂ : 250 mg L ⁻¹).....	101
Figura 29 -	Modificação do perfil cromatográfico durante a fotocatalise (A) e da área integrada durante a aplicação de processos de adsorção, fotólise e fotocatalise heterogênea (B) nos estudos de degradação de 17α-etinilestradiol com TiO ₂ suspensão e radiação UVC (17α-etinilestradiol: 20,0 µg L ⁻¹ , volume: 220 mL, pH: 7,3, TiO ₂ : 250 mg L ⁻¹).....	102
Figura 30 -	Modificação da área integrada durante a aplicação de processos de	

	adsorção, fotólise e fotocatalise heterogênea nos estudos de degradação fotocatalítica da estrona (A), 17 β -estradiol (B) e 17 α -etinilestradiol (C) com TiO ₂ suspensão e luz UVA. (Solução de 20,0 μ g L ⁻¹ , volume: 220 mL, pH: 7,3, TiO ₂ : 250 mg L ⁻¹).....	104
Figura 31 -	Subprodutos gerados por fotólise UVC e fotocatalise UVC em diferentes tempos de degradação (E1, E2 e EE2: 20,0 μ g L ⁻¹ , volume: 220 mL, pH: 7,3, concentração de TiO ₂ na fotocatalise: 250 mg L ⁻¹).....	105
Figura 32 -	Degradação dos hormônios E1, E2 e EE2 variando-se a massa de catalisador de 0,750 g L ⁻¹ a 2,0 g L ⁻¹ (Solução de 20,0 μ g L ⁻¹ , volume: 220 mL, pH 7,3, 10 minutos de reação).....	112
Figura 33 -	Modificação da área integrada durante a aplicação de processos de adsorção, fotólise e fotocatalise heterogênea nos estudos de degradação fotocatalítica da estrona (A), 17 β -estradiol (B) e 17 α -etinilestradiol (C) com ZnO em suspensão e luz UVA. (Solução de 20,0 μ g L ⁻¹ , volume: 220 mL, pH: 7,3, ZnO: 750 mg L ⁻¹).....	113
Figura 34 -	Remoção de E2, EE2 e E1 por fotólise (UVC, UVA e solar) e adsorção na superfície do catalisador (estrogênios 20,0 μ g L ⁻¹ , 200 mL, TiO ₂ : 250 mg L ⁻¹ , ZnO: 750 mg L ⁻¹ , pH ~ 7,0). Determinação por SPE/HPLC/DAD/Flu.....	117
Figura 35 -	Remoção de E2, EE2 e E1 por fotocatalise empregando TiO ₂ (UV-C, UV-A e solar) e ZnO (UV-A e solar) (estrogênios 20,0 μ g L ⁻¹ , 200 mL, TiO ₂ : 250 mg L ⁻¹ , ZnO: 750 mg L ⁻¹ , pH ~ 7,0). Determinação por SPE/HPLC/DAD/Flu.....	119
Figura 36 -	Remoção de E1, E2 e EE2 por recirculação em um reator solar CPC (estrogênios 20,0 μ g L ⁻¹ , 10 L; TiO ₂ : 250 mg L ⁻¹ , ZnO: 750 mg L ⁻¹ , pH ~ 7,0).....	122
Figura 37 -	Esquema representativo da interação química entre cálcio (II) e alginato (A) e esferas de alginato de cálcio (B).....	123
Figura 38 -	Imagens e mapeamento químico dos fotocatalisadores suportados (A: esferas de alginato/TiO ₂ , B: detalhe da superfície do alginato/TiO ₂ (x2000), C: mapeamento químico de titânio nas esferas de alginato/TiO ₂ , D: esferas de alginato/ZnO, E: detalhe da superfície do alginato/ZnO (x2000), F: mapeamento químico de zinco nas esferas de alginato/ZnO.....	124
Figura 39 -	Representação geométrica do planejamento fatorial 2 ² utilizado para investigação do efeito das variáveis massa de TiO ₂ e pH na degradação fotocatalítica de trimetoprima (trimetoprima: 20,00 mg L ⁻¹ ,	

	massa de TiO_2/g de esfera: 2,06 g, volume: 250 mL, tempo de reação: 60 min, Resposta: área espectral integrada entre 190 e 350 nm).....	125
Figura 40 -	Modificação da área espectral (A/A_0) de Trimetoprima (10 mg L^{-1}) durante a adsorção, fotólise e degradação fotocatalítica mediada por TiO_2 (A) e ZnO (B) imobilizados em alginato de cálcio utilizando-se radiação UVC e UVA.....	126
Figura 41 -	Espectro Raman dos anéis vidro/ TiO_2	127
Figura 42 -	Anel de vidro modificado com TiO_2 , com $\varnothing_{\text{int}} 5 \text{ mm}$, $\varnothing_{\text{ext}} = 8 \text{ mm}$ e espessura de aproximadamente 2 mm (A), imagem da superfície (x 250, B) e mapeamento químico de Titânio sobre a superfície do anel de vidro (C).....	127
Figura 43 -	Degradação dos estrogênios E1, E2 e EE2 utilizando TiO_2 imobilizado em anéis de vidro, na presença de luz UVA e borbulhamento com ar atmosférico. (Solução em concentração de $20,0 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, volume: 150 mL, pH: 7,3.).....	128
Figura 44 -	Remoção dos estrogênios E1, E2 e EE2 ($20,0 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$) por processos Fenton e foto-Fenton (pH 3,0, 15 mg L^{-1} de Fe^{2+} , 150 mg L^{-1} de H_2O_2)...	130
Figura 45 -	Acompanhamento da concentração de formas ferrosas e férricas (A) e de H_2O_2 (B) durante a degradação de E1, E2 e EE2 por processos Fenton.....	131
Figura 46 -	Acompanhamento da concentração de formas ferrosas e férricas (A) e de H_2O_2 (B) durante a degradação de E1, E2 e EE2 por processos foto-Fenton.....	131
Figura 47 -	Remoção dos estrogênios E1, E2 e EE2, $20,0 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, por processos foto-Fenton em reator solar parabólico. 210 mL de solução. (Condições iniciais: 15 mg L^{-1} de Fe^{2+} , 150 mg L^{-1} de H_2O_2 e pH 3,0).....	133
Figura 48 -	Acompanhamento da concentração de (A) H_2O_2 e de (B) formas ferrosas e férricas durante a degradação de E1, E2 e EE2, $20,0 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, por processos foto-Fenton em reator solar parabólico. (Condições iniciais: 15 mg L^{-1} de Fe^{2+} , 150 mg L^{-1} de H_2O_2 e pH 3,0).....	133
Figura 49 -	Remoção dos estrogênios E1, E2 e EE2, $20,0 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, por processos foto-Fenton em reator solar (CPC). 10L de solução. Vazão: $0,5 \text{ L min}^{-1}$. (Condições iniciais: 15 mg L^{-1} de Fe^{2+} , 150 mg L^{-1} de H_2O_2 e pH 3,0)....	134
Figura 50 -	Acompanhamento da concentração de (A) formas ferrosas e férricas e de (B) H_2O_2 durante a degradação de E1, E2 e EE2, $20,0 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, por processos foto-Fenton em reator solar CPC. 10L de solução. Vazão:	

	0,5 L min ⁻¹ . (Condições iniciais: 15 mg L ⁻¹ de Fe ²⁺ , 150 mg L ⁻¹ de H ₂ O ₂ e pH 3,0).....	135
Figura 51 -	Esquema representativo de obtenção da quitosana através da reação da desacetilação da quitina.....	137
Figura 52 -	Difratogramas de Raios-X das esferas de quitosana reticuladas com glutaraldeído sob diferentes situações de uso e padrões de difração para diferentes formas cristalinas de ferro.....	138
Figura 53 -	Espectros de EPR das esferas de quitosana/ferro, obtidos a temperatura ambiente, sob diferentes situações de uso.....	139
Figura 54 -	Imagens das esferas de quitosana (A) antes da adsorção de ferro; (B) depois da adsorção de ferro; (C) MEV da superfície externa e (D) interna, da quitosana sem adsorção de ferro, com aumento de 5000x; (E) MEV da superfície externa e (F) interna, da quitosana com ferro adsorvido, com aumento de 5000x.....	141
Figura 55 -	Mapeamento químico da superfície (A) interna e (B) externa do ferro suportado em quitosana.....	142
Figura 56 -	Degradação dos estrogênios por processos Fenton e foto-Fenton aplicados na presença de quitosana modificada com ferro (Estrogênios: 100,0 µg L ⁻¹ , 210 mL, pH: 7, massa de fotocatalisador: 10 g, H ₂ O ₂ : 100 mg L ⁻¹).....	145
Figura 57 -	Acompanhamento da concentração de (A) formas ferrosas e férricas e de (B) H ₂ O ₂ durante a degradação de E2 e EE2 por processos Fenton heterogêneos.....	146
Figura 58 -	Acompanhamento da concentração de (A) formas ferrosas e férricas e de (B) H ₂ O ₂ durante a degradação de E2 e EE2 por processos foto-Fenton heterogêneos.....	146
Figura 59 -	Degradação dos estrogênios E2 (A) e EE2 (B) por processos foto-Fenton aplicados na presença de quitosana modificada com ferro (Estrogênios: 100,0 µg L ⁻¹ , 210 mL, pH: 7, massa de fotocatalisador: 10 g, H ₂ O ₂ : 100 mg L ⁻¹).....	147
Figura 60 -	Evolução do pH durante processo de degradação dos hormônios E2 e EE2 por processos foto-Fenton aplicados na presença de quitosana modificada com ferro (Estrogênios: 100,0 µg L ⁻¹ , 210 mL, pH: 7, massa de fotocatalisador: 10 g, H ₂ O ₂ : 100 mg L ⁻¹).....	148
Figura 61 -	Degradação dos estrogênios por processos foto-Fenton aplicados na presença de 0,50 e 0,30 mg L ⁻¹ de Fe ²⁺ em solução. A ₀ medido após 5 minutos de experimento Fenton. (Estrogênios: 100 µg L ⁻¹ , 210 mL, pH:	

	7, H_2O_2 : 100 mg L^{-1}).....	149
Figura 62 -	Acompanhamento da concentração de H_2O_2 (A e C) e de formas ferrosas e férricas (B e D) durante a degradação de E2 e EE2 por processos foto-Fenton homogêneo empregando baixas concentrações de íons ferrosos.....	151
Figura 63 -	Degradação dos estrogênios por processos foto-Fenton aplicados na presença de quitosana sem adsorção de ferro (Estrogênios: 100,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, 210 mL, pH: 7, massa de fotocatalisador: 10 g, H_2O_2 : 100 mg L^{-1})...	152
Figura 64 -	Degradação dos estrogênios por processos foto-Fenton heterogêneos em reator parabólico sob luz solar. (10 g de esferas de quitosana-Fe, 100 mg L^{-1} de H_2O_2 e pH 7,0, E2 e EE2 a 100,0 $\mu\text{g L}^{-1}$).....	153
Figura 65 -	Acompanhamento da concentração de (A) formas ferrosas e férricas e de (B) H_2O_2 durante a degradação de E2 e EE2 por processos foto-Fenton heterogêneo em reator parabólico sob luz solar.....	153
Figura 66 -	Representação dos mecanismos de lixiviação de formas férricas e ferrosas a partir de óxidos de ferro em processos foto-Fenton.....	156
Figura 67 -	Representação de mecanismos heterogêneos associados a processos foto-Fenton aplicados na presença de óxidos férricos.....	159
Figura 68 -	Representação geométrica do planejamento 2^3 elaborado para estudar o efeito das condições experimentais na lixiviação de ferro do catalisador quitosana/Ferro.....	160
Figura 69 -	Tratamento de amostra de efluente de estação de tratamento de esgoto, fortificada com com 50,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ de E2 e EE2, por fotocatalise heterogênea com TiO_2 em suspensão e imobilizado em anéis de vidro. (pH = 7,0).....	162
Figura 70 -	Tratamento de amostra de efluente da ETE B, fortificada com E1, E2 e EE2, por sistema Fenton, em reator solar CPC. 10 L de solução. (Condições iniciais: 15 mg L^{-1} de Fe^{2+} , 150 mg L^{-1} de H_2O_2 e pH 3,0, fortificação 50,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ de E1, E2 e EE2).....	165
Figura 71 -	Acompanhamento das concentrações de H_2O_2 (A) e das espécies de ferro (B) durante o tratamento por sistema Fenton, em reator solar (CPC) de amostra de efluente da ETE B, fortificada com E1, E2 e EE2 (50 $\mu\text{g L}^{-1}$). 10 L de solução. (Condições iniciais: 15 mg L^{-1} de Fe^{2+} , 150 mg L^{-1} de H_2O_2 e pH 3,0).....	165

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Estrutura química e principais propriedades físico-químicas dos estrógenos E1, E2, EE2 e E3	26
Tabela 2 -	Quantidade média de estrógenos excretados diariamente na urina de humanos	26
Tabela 3 -	Quantidade média de estrógenos encontrados no meio aquoso em ng L ⁻¹	27
Tabela 4 -	Quantidade média de estrógenos encontrados em estações de tratamento (em ng L ⁻¹) e percentual de remoção.....	28
Tabela 5 -	Estrogênios e suas respectivas rejeições em estudos de remediação por membranas.....	38
Tabela 6 -	Condições avaliadas na otimização do processo de fotocatalise heterogênea.....	59
Tabela 7 -	Condições avaliadas na otimização do processo foto-Fenton heterogêneo.....	66
Tabela 8 -	Condições testadas para recuperação dos hormônios em água pura fortificada com 10,0 µg L ⁻¹ de cada hormônio.....	68
Tabela 9 -	Condições cromatográficas otimizadas para determinação dos hormônios E1, E2 e EE2.....	72
Tabela 10 -	Parâmetros da regressão da curva analítica obtida para E1, E2 e EE2 por HPLC-DAD (0,03 a 0,50 mg L ⁻¹) e principais parâmetros de mérito.....	74
Tabela 11 -	Parâmetros de mérito para determinação cromatográfica de estrogênios em solução padrão aquosa utilizando-se detecção DAD (E1) e de fluorescência (E2, EE2 e E3).....	77
Tabela 12 -	Condições testadas para recuperação dos hormônios em água pura fortificada com 10,0 µg L ⁻¹ de cada hormônio.....	79
Tabela 13 -	Testes de recuperação dos hormônios E1, E2 e EE2 em processos de extração realizados em cartuchos de diferentes procedências (Concentração: 10,0 µg L ⁻¹ , volume: 100 mL, n = 3).....	80
Tabela 14 -	Avaliação do reuso dos cartuchos Thermo (500 mg, 3 mL) utilizando 100 mL de solução dos hormônios E1, E2 e EE2 em concentração de 20,0 µg L ⁻¹	82
Tabela 15 -	Porcentagem de recuperação média e valores de desvio padrão, em soluções de 20,0 µg L ⁻¹ para E1, E2 e EE2, determinados por HPLC-DAD.....	83

Tabela 16 -	Recuperação de estrogênios de soluções aquosas por extração em fase sólida.....	85
Tabela 17 -	Parâmetros de mérito para determinação cromatográfica de estrogênios em solução padrão aquosa pelo gradiente 2.....	88
Tabela 18 -	Recuperação de E2 a partir de amostras de esgoto (afluente e efluente)..	91
Tabela 19 -	Planejamento fatorial utilizado para avaliar o efeito do pH e massa de TiO_2 na remoção de E1, E2 e EE2 (estrogênios $20 \mu\text{g L}^{-1}$, 220 mL; tempo de reação: 10 min).....	96
Tabela 20 -	Análise de variância para modelo linear desenvolvido a partir de dados de degradação de E2 por fotocatalise heterogênea empregando TiO_2/UVA	99
Tabela 21 -	Planejamento fatorial 2^2 para otimização do processo de fotodegradação dos hormônios em concentrações de $20 \mu\text{g L}^{-1}$ (tempo de reação: 10 min).....	110
Tabela 22 -	Teor de ferro na matriz de quitosana e nas esferas de quitosana modificada com ferro após ciclos de uso.....	139
Tabela 23 -	Teor de ferro (% m/m) medido em regiões externas e internas das esferas de quitosana.....	140
Tabela 24 -	Condições avaliadas na otimização do processo foto-Fenton heterogêneo, E2 e EE2 = $100 \mu\text{g L}^{-1}$, (Tempo = 30 min, H_2O_2 = 100 mg L^{-1} , Volume de solução = 210 mL).....	144
Tabela 25 -	Monitoramento do pH durante a degradação de E2 e EE2 por processos foto-Fenton homogêneo empregando $0,30 \text{ mg L}^{-1}$ de Fe^{2+}	150
Tabela 26 -	Monitoramento do pH durante a degradação de E2 e EE2 por processos foto-Fenton heterogêneo sob luz solar natural, empregando 10g de esferas de quitosana-Fe, 100 mg L^{-1} de H_2O_2 e pH 7,0. Soluções dos estrogênios E2 e EE2 a $100 \mu\text{g L}^{-1}$	154
Tabela 27 -	Cálculo dos efeitos das variáveis pH, radiação, e H_2O_2 na lixiviação das esferas de quitosana empregando 5 g de esferas, 100 mL de água ultrapura e 30 minutos de reação.....	160

LISTA DE ABREVIATURAS

A/A₀ – área/área inicial
ACN – acetonitrila
ANOVA – Análise de variância
ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOP = POA – processo avançado de oxidação
BC – banda de condução
BV – banda de valência
C/C₀ – concentração/concentração inicial
CAG – carvão ativado granular
CAP – carvão ativado em pó
CEM – Centro de Microscopia Eletrônica
CG – cromatografia em fase gasosa
CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente
CPC – coletor parabólico composto
CV – coeficiente de variação
DAD – detector de arranjo de diodos
DES – dietil-estil-bestrol
DQO – demanda química de oxigênio
EDs – “endocrine disruptors”
EE2 – 17 α -etinilestradiol
EPR – ressonância paramagnética eletrônica
ESI – ionização por eletrospray (electron spray ionization)
ETE – estação de tratamento de efluentes
eV – elétron volt
E2 – 17 β -estradiol
E3 – Estriol
E1 – estrona
FAD – flotação por ar dissolvido
Fe^T – ferro total
FLC – faixa linear de calibração
Flu – fluorescência
GARP – Associação Grupo de Analistas de Resíduos de Pesticidas
HPLC – cromatografia em fase líquida de alta eficiência (High performance liquid chromatography)
IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

ICH – Conferência Internacional de Harmonização

ICP-OES – espectrometria de emissão ótica com fonte de plasma indutivamente acoplado

IF – intensidade de fluorescência

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial

ISO – International Organization for Standardization

IUPAC – União Internacional de Química Pura e Aplicada

LD – limite de detecção

LNG - levonorgestrel

LQ – limite de quantificação

mAU – mili unidades de absorbância

MeOH – metanol

MEV – microscopia eletrônica de varredura

MM – massa molar

mm Hg – milímetro de mercúrio

MN – Macherey-Nagel

MS – espectrometria de massas

NAS – lodo ativado nitrificante (nitrifying activated sludge)

PCZ – ponto de carga zero

PNSB – Pesquisa Nacional de Saneamento Básico

PNUD – Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento

PTFE – politetrafluoretileno (teflon)

PV – pressão de vapor

PVC – cloreto de polivinila

PVDF – fluoreto de polivinilideno

Q-TOF – quadrupole-time-of-flight

Quit – quitosana

RALF – reatores anaeróbicos de lodo fluidizado

RE – resolução

RSD – desvio padrão relativo

SPE – extração em fase sólida (solid phase extraction)

TMP – trimetoprima

UPLC – Cromatografia em fase líquida de ultra-performance (ultra performance liquid chromatographic)

US-FDA – United States Food and Drug Administration

UVA – ultravioleta A

UVB – ultravioleta B

UVC – ultravioleta C

UV-VIS – ultravioleta-visível

YES - Yeast Estrogen Screen

LISTA DE SÍMBOLOS

\approx – aproximadamente

r – coeficiente de correlação

K_{ow} – coeficiente de partição octanol-água

λ – comprimento de onda

λ_{EX} – comprimento de onda de excitação

λ_{EM} – comprimento de onda de emissão

\varnothing – diâmetro

s – estimativa do desvio padrão

♀ – feminino

ε – força de eluição

♂ – masculino

μM – $\mu \text{ mol L}^{-1}$

M – mol L^{-1}

$T_{1/2}$ – tempo de meia vida

θ – teta

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	22
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	24
2.1 INTERFERENTES ENDÓCRINOS (ESTROGÊNIOS) NO MEIO AMBIENTE.....	25
2.2 DETERMINAÇÃO CROMATOGRÁFICA DE ESTROGÊNIOS.....	29
2.2.1 Preparo de amostras.....	31
2.2.2 Parâmetros de controle analítico.....	32
2.2.2.1 Seletividade.....	33
2.2.2.2 Linearidade.....	33
2.2.2.3 Faixa de aplicação.....	33
2.2.2.4 Sensibilidade.....	34
2.2.2.5 Precisão.....	34
2.2.2.6 Exatidão.....	34
2.2.2.7 Limite de detecção.....	35
2.2.2.8 Limite de quantificação.....	35
2.2.2.9 Robustez.....	36
2.3 TRATAMENTO DE ÁGUAS CONTAMINADAS POR ESTROGÊNIOS.....	36
2.3.1 Adsorção em carvão.....	36
2.3.2 Separação mediada por membranas.....	38
2.3.3 Biodegradação.....	39
2.3.4 Processos avançados de oxidação (AOP).....	40
2.3.4.1 Fotocatálise heterogênea em suspensão.....	42
2.3.4.2 Fotocatálise heterogênea com semicondutor suportado.....	48
2.3.4.3 Processos Fenton.....	50
2.3.4.4 Sistema foto-Fenton.....	52
2.3.4.5 Sistemas foto-Fenton com ferro suportado.....	53
3 OBJETIVOS.....	55
3.1 OBJETIVO GERAL.....	55
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	55
4 PARTE EXPERIMENTAL.....	56
4.1 ESTRATÉGIA DE TRABALHO.....	56
4.2 REAGENTES E MATERIAIS.....	56
4.2.1 Amostras de efluente sanitário.....	57
4.2.2 Preparo das amostras sintéticas.....	58
4.2.3 Lavagem da vidraria.....	58

4.3 METODOLOGIAS.....	58
4.3.1 Tratamento fotocatalítico de soluções aquosas de estrogênios com catalisadores (TiO ₂ ou ZnO) em suspensão e radiação artificial.....	58
4.3.2 Tratamento fotocatalítico de soluções aquosas de estrogênios com catalisadores (TiO ₂ ou ZnO) em suspensão e radiação solar.....	60
4.3.3 Imobilização de TiO ₂ e ZnO em alginato de cálcio.....	61
4.3.3.1 <i>Tratamento fotocatalítico com catalisadores suportados em alginato de cálcio.....</i>	62
4.3.4 Imobilização de TiO ₂ em anéis de vidro.....	62
4.3.4.1 <i>Tratamento fotocatalítico de soluções aquosas de estrogênios com TiO₂ suportado em anéis de vidro.....</i>	63
4.3.5 Tratamento de soluções aquosas de estrogênios por processos Fenton homogêneos sob radiação artificial.....	64
4.3.6 Tratamento de soluções aquosas de estrogênios por processos Fenton homogêneos sob radiação solar.....	64
4.3.7 Imobilização de ferro em quitosana.....	65
4.3.7.1 <i>Tratamento de soluções aquosas de estrogênios por processo Fenton heterogêneo sob radiação artificial.....</i>	66
4.3.8 Degradação de amostras de esgoto.....	66
4.4 CONTROLE ANALÍTICO.....	67
4.4.1 Extração em fase sólida (SPE) de estrógenos em solução aquosa.....	67
4.4.2 Extração em fase sólida (SPE) de estrógenos em amostras de esgoto.....	68
4.4.3 Determinação cromatográfica de estrogênios em solução aquosa.....	69
4.4.4 Outras determinações.....	70
4.4.4.1 <i>Quantificação de ferro II e ferro III.....</i>	70
4.4.4.2 <i>Determinação de peróxido de hidrogênio residual.....</i>	71
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	72
5.1 CONTROLE ANALÍTICO.....	72
5.1.1 Determinação cromatográfica de estrogênios por HPLC-DAD.....	72
5.1.2 Determinação cromatográfica de estrogênios por HPLC-Flu.....	76
5.1.3 Extração em fase sólida (SPE) de estrógenos em solução aquosa.....	78
5.1.4 Extração em fase sólida (SPE) de estrógenos em esgoto.....	85
5.1.5 Comentários sobre o estabelecimento de ferramentas de análise para estrogênios em solução aquosa.....	93
5.2 TRATAMENTO FOTOCATALÍTICO COM CATALISADOR EM SUSPENSÃO.....	93
5.2.1 Estudos preliminares.....	93
5.2.2 Degradação fotocatalítica de estrogênios na presença de TiO ₂ e luz artificial.....	95

5.2.3 Degradação fotocatalítica de estrogênios na presença de ZnO e luz artificial.....	110
5.2.4 Degradação fotocatalítica de estrogênios na presença de TiO ₂ , ZnO e radiação solar.....	117
5.2.5 Comentários sobre a degradação fotocatalítica de estrogênios na presença de radiação artificial e fotocatalisadores em suspensão.....	122
5.3 TRATAMENTO FOTOCATALÍTICO COM CATALISADOR IMOBILIZADO.....	122
5.3.1 Imobilização de TiO ₂ e ZnO em alginato de cálcio.....	122
5.3.2 Imobilização de TiO ₂ em anéis de vidro.....	126
5.3.3 Comentários sobre a degradação fotocatalítica de estrogênios na presença de radiação artificial e fotocatalisadores suportados.....	129
5.4 TRATAMENTO DE ESTROGÊNIOS POR PROCESSOS FENTON.....	129
5.4.1 Sistema Fenton homogêneo sob luz artificial.....	129
5.4.2 Sistema Fenton homogêneo sob luz solar.....	132
5.4.3 Sistema Fenton heterogêneo.....	136
5.4.3.1 <i>Preparo e caracterização do fotocatalisador</i>	136
5.4.3.2 <i>Sistema Fenton heterogêneo sob luz artificial</i>	143
5.4.3.3 <i>Estudos de degradação em processos Fenton heterogêneo sob luz solar natural</i>	152
5.5 DEGRADAÇÃO DE AMOSTRAS DE ESGOTO.....	161
5.5.1 Tratamento de estrógenos em amostras de esgoto em escala de bancada empregando TiO ₂ e radiação artificial.....	161
5.5.2 Tratamento de estrógenos em amostras de esgoto em reator solar (CPC).....	164
6 CONCLUSÕES	168
7 PERSPECTIVAS FUTURAS	170
8 REFERÊNCIAS	171

1 INTRODUÇÃO

De maneira geral, o processo de contaminação ambiental afeta com igual preocupação todos os compartimentos ambientais, em razão da grande diversidade de resíduos produzidos pela atividade humana. Com relação à contaminação do meio hídrico, destaque pode ser dado ao lançamento de resíduos domésticos e industriais, assim como à produção de resíduos agrícolas, os quais costumam apresentar um elevado potencial poluente.

Dentro do contexto dos resíduos de origem doméstica, especial atenção tem sido dada aos efluentes sanitários, resíduo que, em função do constante crescimento populacional e da usual urbanização mal planejada, contribui de maneira decisiva com a contaminação dos recursos hídricos, devido a problemas relacionados com o tratamento destes efluentes. Além dos problemas macroscópicos associados ao lançamento de esgoto, um número crescente de artigos tem enfatizado mais recentemente a veiculação de diversos micropoluentes, espécies químicas capazes de provocar efeitos deletérios mesmo em concentrações da ordem de ng L^{-1} . Dentre os micropoluentes pesquisados, os estrogênios ocupam um lugar de destaque, principalmente em função da sua presença contínua no esgoto, da usual ineficiência de remoção apresentada pelos processos convencionais de tratamento e da grande variedade de efeitos adversos provocados pela sua presença.

Nos últimos anos, diversos trabalhos têm sido desenvolvidos com o objetivo de monitorar a presença de estrogênios em águas naturais, sendo freqüente a sua presença em águas superficiais e subterrâneas. Por outro lado, esforços têm sido dedicados ao estudo de novas tecnologias para purificação da água, comprovando-se a elevada capacidade de degradação apresentada pelos processos avançados de oxidação. De maneira geral, referidos processos permitem a eficiente degradação de poluentes em fase aquosa, em alguns casos promovendo a sua completa mineralização, em tempos de reação relativamente curtos.

Buscando contribuir com as necessidades expostas, o presente trabalho objetiva investigar técnicas de pré-concentração com base em métodos de extração em fase sólida (SPE) que permitem verificar a presença dos analitos de interesse. Em conjunto com estas técnicas, serão empregados equipamentos com sensibilidade aos estrogênios 17β -estradiol, estrona e 17α -etinilestradiol, acima dos valores nominais relatados em diferentes referências para técnicas de cromatografia em fase líquida de alta eficiência acoplada a detectores UV-VIS e de fluorescência. O processo de pré-concentração precisa ser validado de acordo com diferentes parâmetros de mérito, permitindo realizar a avaliação da presença de estrogênios de relevância ambiental em amostras aquosas e de esgoto, bruto e tratado, e a avaliação da eficiência de degradação dos processos

propostos, em escala de bancada e piloto

Como forma de degradação, pretende-se investigar os resultados obtidos por fotocatalise heterogênea e sistemas Fenton empregando diferentes variáveis de tratamento que serão otimizadas através de ensaios de planejamento experimental. Como catalisadores do processo pretende-se avaliar o uso de TiO_2 e ZnO (fotocatalise heterogênea) em suspensão ou imobilizado, com exposição a radiação artificial (UVA e UVC) e natural (radiação solar). Também será investigado o potencial dos sistemas Fenton, com ferro nas suas formas livre e imobilizada. Em todos os estudos, formas imobilizadas de emprego dos catalisadores necessitam ser caracterizadas.

Por fim, alguns métodos de tratamento serão testados em reatores em escala de bancada e escala piloto.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Conforme defendido por alguns autores, o crescimento populacional e o aumento da atividade industrial vêm causando problemas ambientais que têm se tornado cada vez mais críticos e freqüentes, provocando alterações na qualidade do solo, do ar e da água (KUNZ *et al.*, 2002, GHISELLI e JARDIM, 2007).

Dentro deste contexto, a contaminação de águas naturais costuma ser considerado um dos maiores problemas da sociedade moderna, com implicações ainda em discussão. Segundo dados do Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento, apresentados no Relatório do Desenvolvimento Humano de 2006, em países em desenvolvimento pelo menos uma em cada duas pessoas não têm acesso à água de boa qualidade, enquanto que apenas 50% da população mundial têm acesso a saneamento adequado (PNUD 2006). Uma análise dos dados brasileiros, realizada pela Pesquisa Nacional de Saneamento Básico (PNSB) e divulgada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2008), mostra que apenas 55,2% dos municípios são atendidos por rede coletora de esgoto e naqueles onde existe uma rede de esgotamento sanitário, somente 28,5% possuem um sistema de tratamento. Em estudos anteriores (IBGE, 2000) já havia sido observado que apenas 20,2% dos municípios brasileiros possuíam condições de esgotamento sanitário adequado, com coleta e tratamento. Por este motivo, o lançamento de efluentes domésticos nos rios pode ser considerado uma das principais fontes poluidoras dos ecossistemas aquáticos. (FREITAS, 2008)

Dentre os muitos tipos de poluentes veiculados pelo esgoto, especial atenção tem sido dada recentemente à classe dos micropoluentes, espécies químicas que, mesmo em concentrações inferiores a $1,0 \text{ mg L}^{-1}$, são capazes de desencadear efeitos deletérios sobre os sistemas em que são introduzidos (REIS FILHO *et al.*, 2006; KLAVERIOTI *et al.*, 2009). Dentro do grande número de substâncias classificadas como micropoluentes, destaque pode ser dado aos interferentes endócrinos (EDs, do inglês *endocrine disruptors*), os quais, em razão da massificação do seu uso, da baixa eficiência de remoção apresentada pelos sistemas convencionais de tratamento (BOLONG *et al.*, 2009; KRAUZE *et al.*, 2009; YING *et al.*, 2009; ZORITA *et al.*, 2009) e do contínuo aporte no ambiente aquático, contaminam águas superficiais e subterrâneas, provocando efeitos deletérios ainda em discussão (BILA e DEZOTTI, 2007a; GHISELLI e JARDIM, 2007; SCHERR *et al.*, 2009).

Nos últimos anos, a presença de interferentes endócrinos em esgoto e águas naturais tem sido relatada com bastante frequência (CAMPBELL *et al.*, 2006; AL-RIFAI *et al.*, 2007; BELGIORNO *et al.*, 2007; KOH *et al.*, 2007; KUSTER *et al.*, 2008; ZORITA *et al.*, 2009), o que representa um alerta para a necessidade de se desenvolver tecnologias de tratamento adequadas (PEREIRA *et al.* 2011b).

No Brasil, os estudos orientados a avaliar a presença deste tipo de contaminação iniciaram em 1999, quando Stumpf *et al.* (1999) e Ternes *et al.* (1999) reportaram pela primeira vez a presença de desreguladores endócrinos em esgotos, efluentes e águas naturais, no Estado do Rio de Janeiro.

2.1 INTERFERENTES ENDÓCRINOS (ESTROGÊNIOS) NO MEIO AMBIENTE

Interferentes endócrinos correspondem a um numeroso grupo de espécies químicas, as quais podem danificar o sistema endócrino, alterar a sua função, interagir com receptores hormonais ou alterar o metabolismo de hormônios em órgãos endócrinos, alterações estas que podem provocar o surgimento de diversas anomalias no sistema reprodutivo, com destaque para infertilidade, câncer de próstata, síndrome da menopausa, masculinização e feminização de espécies (JANEX-HABIBI *et al.*, 2009; REIS *et al.*, 2006).

Várias são as substâncias que podem afetar o sistema endócrino, incluindo substâncias sintéticas (ex. alquilfenóis, pesticidas, ftalatos, bifenilas policlorados, bisfenol A, fármacos, dentre outras) e naturais (estrogênios e fitoestrogênios), (THOMAS, 1998; JØRGENSEN E SØRENSEN, 2000, SODRÉ *et al.*, 2007b).

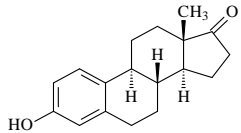
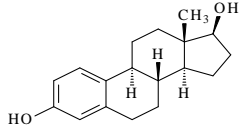
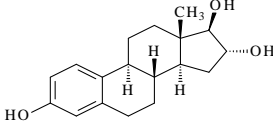
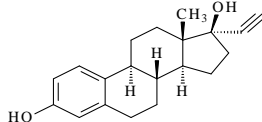
Dentre os desreguladores endócrinos, especial atenção tem sido dada a estrogênios naturais como 17 β -estradiol (E2), estriol (E3) e estrona (E1), produzidos naturalmente por mamíferos e excretados principalmente por mulheres em idade fértil. Por sua vez, também tem despertado interesse alguns estrógenos sintéticos, como o 17 α -etinilestradiol (EE2), usados extensivamente como contraceptivos e com propósitos terapêuticos, principalmente para o controle da síndrome da menopausa e do câncer de próstata (REIS filho *et al.*, 2006).

A estrutura química destes estrógenos e algumas importantes propriedades físico-químicas são apresentadas na Tabela 1, enquanto que a quantidade média excretada por humanos é apresentada na Tabela 2.

Os valores de Log K_{OW} indicam certa hidrofobicidade dos compostos, consequentemente eles apresentam uma maior solubilidade em meio apolar, refletindo em uma tendência à migração para o meio orgânico, sendo encontrados facilmente nos sedimentos. Em relação à solubilidade, os estrogênios naturais E1, E2 e E3 apresentam uma solubilidade aproximadamente 25 vezes maior que o estrogênio sintético EE2. Entretanto, estas concentrações são bastante superiores às usualmente encontradas na natureza, que costumam ser da ordem de $ng\ L^{-1}$. A pressão de vapor mostra baixa tendência à vaporização, indicando que estes compostos tendem a permanecer no meio aquoso. Além disso, isso implica em uma maior facilidade de análise por processos cromatográficos em fase líquida. Com relação aos antecedentes apresentados na Tabela

2, é possível constatar que o aporte diário dos estrogênios é relativamente baixo. Entretanto, levando-se em consideração que grande parte da população se concentra nos grandes centros urbanos a frequência com que estas espécies são encontradas no meio ambiente não é surpreendente.

Tabela 1. Estrutura química e principais propriedades físico-químicas dos estrógenos E1, E2, EE2 e E3.

Substância	Estrutura química	Fórmula	MM	S	Log K _{ow}	PV
Estrona (E1)		C ₁₈ H ₂₂ O ₂	270,37	12,42	3,13	2,3x10 ⁻¹⁰
17β-estradiol (E2)		C ₁₈ H ₂₄ O ₂	272,39	12,96	4,01	2,3x10 ⁻¹⁰
Estriol (E3)		C ₁₈ H ₂₄ O ₃	288,40	13,25	2,45	6,7x10 ⁻¹⁵
17α-etinilestradiol (EE2)		C ₂₀ H ₂₄ O ₂	296,40	0,48	3,67	4,5x10 ⁻¹¹

MM: Massa Molar (g mol⁻¹); S: Solubilidade em água a 25°C (mg L⁻¹); PV: Pressão de Vapor (mm Hg). **Fonte:** Adaptado de REIS FILHO *et al.*, 2006.

Tabela 2. Quantidade média de estrógenos excretados diariamente na urina de humanos.

Estrógeno	Excreção ♂ (μg/dia)	Excreção ♀ (μg/ dia)			
		Pré-menopausa	Pós-menopausa	Gravidez	Tratamento Hormonal
E1	3,9	10,7	5,00	11,94	-
E2	1,5	4,71	2,78	347	-
E3	1,5	8,12	2,78	24078	-
EE2	-	-	-	-	10,5-31,5*

*Valores baseados em excreções de 30-90% de mulheres em tratamento com pílula contraceptiva contendo 35 μg/dia de EE2 (ABDEL-AZIZ e WILLIAMS, 1970; RANNEY, 1977 *apud* JOHNSON *et al.*, 2000). **Fonte:** JOHNSON *et al.*, 2000; LIU *et al.*, 2009.

Em função da seriedade dos efeitos causados por essas substâncias, diversos trabalhos orientados a identificar e quantificar a presença de hormônios em águas naturais foram desenvolvidos na última década. Na Tabela 3 se apresentam alguns valores de concentração reportados na análise de águas superficiais, subterrâneas e de

consumo, valores estes que demonstram a presença de estrogênios inclusive em águas de consumo, em níveis de ng L^{-1} .

Tabela 3. Quantidade média de estrógenos encontrados no meio aquoso em ng L^{-1} .

	Água superficial	Água subterrânea	Água potável
Estrona (E1)	<0,1-3,4 [1];	n.d-120 [2]	0,2-0,6 [11]
	0,2-6,6 [3]	n.d-4,5 [13]	
	<0,3-7,2[4]	n.d-1,6 [16]	
	5-12[5]		
	1,4-12,9 [6]		
	<17-38 [7]		
	n.d-7,4 [15]		
	n.d-4,6 [16]		
	1,1-3,0 [17]		
17β-estradiol (E2)	<0,3-5,5 [1]	n.d-45 [2]	0,2-2,1 [11]
	0,6-1,0 [3]	6-66 [9]	2,6 [12]
	<0,8-1,0 [4]	13-80 [10]	n.d-2,6 [15]
	2-6 [5]	n.d-0,79 [16]	
	n.d-8,8 [6]		
	<0,7-1,7 [7]		
	1,6-15,5 [8]		
	n.d-3,8 [15]		
Estriol (E3)	2-5 [5]	n.d-0,16 [16]	-
	n.d-3,3 [6]		
	n.d-3,1 [14]		
	n.d-1,7 [15]		
	n.d-1,9 [16]		
	1,0-2,5 [17]		
17α-etinilestradiol (EE2)	<0,1-4,3 [1]	n.d-0,94 [16]	0,15-0,5 [11]
	<0,3-0,4 [4]		
	n.d-1 [5]		
	5,7-30,8 [8]		
	0,1-5,1 [11]		
	n.d-4,6[15]		
	1,1-2,9[17]		

[1] BELFROID *et al.*, 1999; [2] SWARTZ *et al.*, 2006; [3] ISOBE *et al.*, 2003; [4] VETHAAK *et al.* 2005; [5] LAGANA *et al.*, 2004; [6] KOLOK *et al.*, 2007; [7] KOLODZIEJ e SEDLAK, 2007; [8] SHEN *et al.*, 2001; [9] PETERSON *et al.*, 2000; [10] WICKS *et al.*, 2004; [11] KUCH and BALLSCHMITER, 2001; [12] ROEFER *et al.*, 2000 citado por NGHIEM *et al.*, 2004; [13] FINE *et al.*, 2003; [14] XIAO *et al.*, 2001; [15] MORTEANI *et al.*, 2006; [16] HOHENBLUM *et al.*, 2004; [17] CARGOUET *et al.*, 2004. **Fonte:** Adaptado de LIU *et al.*, 2009.

Além do interesse no monitoramento de estrogênios em águas naturais, esforços têm sido dedicados a avaliar a capacidade das estações de tratamento de esgoto, em relação à remoção dos compostos estrogênicos dos esgotos. Na Tabela 4 são apresentados valores de concentração de estrogênio reportados em afluentes e efluentes de estações de tratamento, bem como o percentual de remoção destes, alcançado nestas estações. É interessante salientar a este respeito que a completa remoção de

estrogênios dificilmente é observada, ao passo que, em muitos casos, uma remoção negativa implica na liberação de estrogênios das suas formas conjugadas.

Tabela 4. Quantidade média de estrógenos encontrados em estações de tratamento (em ng L⁻¹) e percentual de remoção.

	afluente	efluente	% remoção	Referência
Estrona (E1)	25-132	2,5-82	-22 a 95	BARONTI <i>et al.</i> , 2000
	44	17	61	D'ASCENZO <i>et al.</i> , 2003
	29-670	n.d ^a -72	-111 a 100	CLARA <i>et al.</i> , 2005
	19-78	1-96	-55 a 98	SERVOS <i>et al.</i> , 2005
	20-130	<0,3 a 11	-	VETHAAK <i>et al.</i> , 2005
	n.d-18,3	n.d-6,7	64 a 100	TAN, 2007
	57,8-83,3	6,3-49,1	41 a 89	ROBERT <i>et al.</i> , 2007
	4-33	0-147	-	FERNANDEZ <i>et al.</i> , 2007
17β-estradiol (E2)	4,0-2,5	0,35-3,5	59 a 98	BARONTI <i>et al.</i> , 2000
	11	1,6	85	D'ASCENZO <i>et al.</i> , 2003
	35-125	n.d-30	44 a 100	CLARA <i>et al.</i> , 2005
	2,4-26	0,2-14,7	-18,5 a 98,8	SERVOS <i>et al.</i> , 2005
	17-150	<0,8	-	VETHAAK <i>et al.</i> , 2005
	22,0	0,95	96	BRAGA <i>et al.</i> , 2005
	n.d-161,6	n.d-5,4	52 a 99	ROBERT <i>et al.</i> , 2007
	0-11	0-158	-	FERNANDEZ <i>et al.</i> , 2007
Estriol (E3)	24-188	0,43-18	77 a 99	BARONTI <i>et al.</i> , 2000
	72	2,3	97	D'ASCENZO <i>et al.</i> , 2003
	23-48	n.d-1	96,7	LAGANA <i>et al.</i> , 2004
	23-660	n.d-275	18 a 100	CLARA <i>et al.</i> , 2005
	138-381	<1-4,9	>7	DREWES <i>et al.</i> , 2005
	2-22	0-29	-	FERNANDEZ <i>et al.</i> , 2007
17α-etinilestradiol (EE2)	0,40-13	n.d-1,7	52 a 100	BARONTI <i>et al.</i> , 2000
	4,9-7,1	2,7-4,5	33-45	CARGOUET <i>et al.</i> , 2004
	<0,3-5,9	<0,3-2,6	-	VETHAAK <i>et al.</i> , 2005
	3-70	n.d-5	33,3 a 100	CLARA <i>et al.</i> , 2005
	<0,7-14,4	<0,7-4,1	71 a 93	DREWES <i>et al.</i> , 2005
	n.d-1,2	n.d-0,6	55	ROBERT <i>et al.</i> , 2007
	0-2	0-178	-	FERNANDEZ <i>et al.</i> , 2007

Fonte: Adaptado de LIU *et al.*, 2009.

O fato de serem encontrados estrogênios tanto em águas naturais, como em águas tratadas, é um fator preocupante, devido à atividade estrogenica apresentada por esses compostos. Desbrow *et al.* (1998) e Jobling *et al.* (1998), por exemplo, demonstraram que os estrogênios naturais 17β-estradiol e estrona, assim como o estrogênio sintético 17α-etinilestradiol, são responsáveis pela maior parte da atividade estrogênica detectada em efluentes de uma estação de tratamento de esgoto no Reino Unido. Neste caso, a atividade estrogênica foi medida através de um teste enzimático/colorimétrico que utiliza 17β-estradiol como padrão para a elaboração de uma curva analítica baseado em um sistema dose-resposta.

Em outros trabalhos o 17α-etinilestradiol é descrito como um agente de elevada toxicidade, a qual foi comprovada em ensaios *in vitro* e *in vivo*. Adicionalmente, estima-se

que o seu tempo de dissipação em rios é da ordem de 20 a 40 dias, o que permite a sua classificação como substância orgânica persistente (RUDDER *et al.*, 2004).

Diversas técnicas têm sido propostas para avaliação de uma medida relativa da atividade estrogênica em matrizes aquosas de origem ambiental. Essa medida tem sido denominada estrogenicidade, sendo medida em relação à presença de diferentes substâncias que apresentam alguma atividade estrogênica. Estas técnicas incluem ensaios *in vitro*, fundamentadas em reações enzimáticas, e *in vivo*, usualmente fundamentadas na expressão de vitelogenina em peixes submetidos ao agente estressante. Embora ambos os tipos de técnicas forneçam resultados aceitos pela comunidade, observam-se diferenças significativas na avaliação da estrogenicidade associada à presença de estrogênios.

Segundo Nghiem *et al.* (2004), por exemplo, o estradiol (E2) possui estrogenicidade 1 para peixes, na concentração de 1 ng L^{-1} , enquanto que o potencial relativo de estrogenicidade da estrona (E1) é dez vezes menor. Por outro lado, estudos *in vitro* realizados por Ying *et al.* (2009) indicam estrogenicidades equivalentes de 0,5 para E1 e de 2,0 para EE2, ao passo que estudos *in vivo* fundamentados pela expressão de vitelogenina em trutas sugerem para EE2 um potencial estrogênico 25 vezes superior ao do E2.

No Brasil, diversos estudos indicam a presença de estrogênios em esgoto bruto e tratado e também em águas naturais, em concentrações máximas de 40 ng L^{-1} de E2, 600 ng L^{-1} de E1, 182 ng L^{-1} de E3 e 25 ng L^{-1} de EE2 (TERNES *et al.*, 1999; SODRÉ *et al.* 2007a, 2010a, 2010b; KUSTER *et al.*, 2009; LOPES *et al.*, 2010; JARDIM *et al.*; 2012)

2.2 DETERMINAÇÃO CROMATOGRÁFICA DE ESTROGÊNIOS

De maneira geral, a determinação de estrogênios em amostras de esgoto e águas naturais se apresenta bastante complexo, principalmente em função da baixa concentração das espécies de interesse, usualmente na faixa de ng L^{-1} , e da complexidade das matrizes em questão.

Embora se trate de micropoluentes não legislados, diversos métodos de análise têm sido propostos para a determinação de estrogênios em diferentes matrizes ambientais. Esses métodos costumam envolver processos preliminares de separação/pré-concentração, principalmente recorrendo-se a sistemas de extração em fase sólida, seguidos de sistemas instrumentais fundamentados em cromatografia em fase líquida, usualmente acoplada a detectores de espectrometria de massas (NIETO *et al.*, 2008; PEDROUZO *et al.*, 2009). Procedimentos baseados em detecção espectroscópica têm sido relatados na literatura (LOPEZ de ALDA e BARCELÓ, 2000; WANG *et al.*, 2006; LOPES *et al.*, 2008; WANG *et al.*, 2008; LI PUMA *et al.*, 2010), permitindo limites de

quantificação compatíveis com a concentração de estrogênios em esgoto e águas naturais.

A cromatografia em fase líquida de alta eficiência começou a ser utilizada na determinação de estrogênios em matrizes aquosas a partir de 1999, época em que Snyder *et al.* (1999) desenvolveram um método fundamentado em detecção por fluorescência (HPLC-Flu). Desde então, outros detectores passaram a ser acoplados ao HPLC para determinação de estrogênios, com destaque para os detectores de massa (LC-MS-MS) que passaram a ser utilizados a partir de 2000 (BARONTI *et al.*, 2000; JOHNSON *et al.*, 2000). Nos últimos anos, o uso deste tipo de detectores se consolidou como uma das principais técnicas para identificação e quantificação de estrogênios e seus subprodutos de degradação.

Além de várias alternativas fundamentadas no uso de detectores de massa (ex. HPLC-MS-MS, KOH *et al.*, 2007; HPLC-ESI-MS, MIÈGE *et al.*, 2009; HPLC-ESI-MS-MS, RODRIGUEZ-MOZAZ *et al.*, 2004; HPLC-íon trap-MS-MS, MATEJÍCEK e KUBÁN, 2008; UPLC-ESI-MS-MS, SUN *et al.*, 2009; CG-MS, GIBSON *et al.*, 2007 e CG-MS-MS, NOPPE *et al.*, 2005), a literatura reporta técnicas baseadas no uso de detectores espectroscópicos, como HPLC-Flu (GARCÍA-PRIETO *et al.*, 2006; GIROTTI *et al.*, 2007; LOPES *et al.*, 2008), HPLC-DAD-MS (LÓPEZ DE ALDA E BARCELÓ, 2000, 2001a, 2001b), HPLC-UV ou HPLC-DAD (WANG *et al.*, 2006, 2008; DU *et al.*, 2010; TORRES, 2009; XU *et al.*, 2010) e HPLC-DAD-Flu (RAIMUNDO, 2007; LOPES, 2007; SODRÉ *et al.*, 2007a; ARAÚJO, 2006), assim como ensaios com uso de anticorpos específicos (ZHAO *et al.*, 2006; WANG *et al.*, 2007; SANFILIPPO *et al.*, 2010).

López de Alda e Barceló (2000, 2001a,b), por exemplo, quantificaram hormônios sexuais de interesse através de extração em fase sólida e determinação por HPLC-DAD, utilizando coluna de sílica C18.

Girotti *et al.* (2007) apresentaram resultados de otimização do processo de extração em fase sólida e utilizaram cromatografia líquida para a separação dos estrogênios 17 β -estradiol, estrona e 17 α -etinilestradiol, com posterior detecção por fluorescência, empregando coluna de sílica C18.

Sodré *et al.* (2007a) também empregaram a técnica de pré-concentração por SPE. Utilizando HPLC foi realizada a separação de E1, E2, EE2 e mais doze compostos considerados interferentes endócrinos ou fármacos, com a estrona sendo determinados por HPLC-DAD, enquanto E2 e EE2 foram monitorados por HPLC-Flu.

LOPES *et al.* (2008) após pré-concentrar amostras contendo E1 e E2 por SPE, avaliaram métodos cromatográficos de determinação destes compostos por HPLC-UV-VIS e HPLC-Flu.

Nestes e em outros exemplos da literatura é comum o desenvolvimento de métodos voltados para a determinação de estrogênios em água utilizando técnicas de pré-concentração e *clean-up* baseadas em extração em fase sólida (SPE).

2.2.1 Preparo de amostras

Vários métodos são citados na literatura para análise de amostras de água potável, superficial, subterrânea e afluentes e efluentes de estações de tratamento, sendo que grande parte deles envolve o uso de sistemas de pré-concentração e *clean-up* da amostra, fundamentados em extração em fase sólida (SPE).

O preparo das amostras envolvendo extração em fase sólida funciona como uma técnica de extração onde os analitos são separados de forma conjunta de acordo com suas propriedades físico-química, na qual o sorvente atua como fase estacionária e o solvente como fase móvel. No modo retentivo, o processo SPE pode ser aplicado em 4 etapas fundamentais, as quais são representadas na Figura 1.

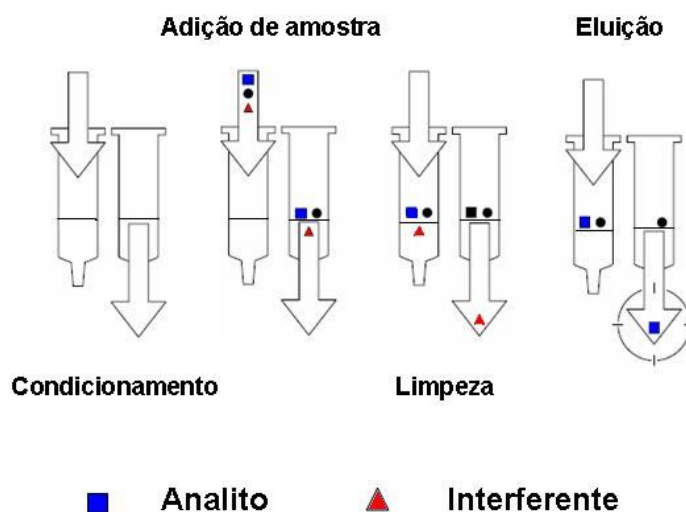


Figura 1: Etapas envolvidas no preparo de amostra por extração em fase sólida SPE. Fonte: Adaptado de MITRA, 2003.

Dentre os métodos propostos na literatura alguns merecem destaque, em virtude do detalhamento apresentado, nem sempre disponível neste tipo de trabalhos.

Giroto *et al.* (2007), em análise de amostras de água fortificada com estrogênios, propuseram o condicionamento inicial do cartucho (C18, 500 mg de sorvente, 6 mL de capacidade) com 4 mL de acetona, 6 mL de metanol e 10 mL de água em pH 3. As

amostras foram inicialmente filtradas em membrana de fibra de vidro de 0,45 μm de poro e passadas pelo cartucho com vazão constante. Os estrogênios foram eluídos com 4 mL de acetona, a qual foi evaporada até a secura sob fluxo de nitrogênio. O resíduo foi redissolvido em acetonitrila, filtrado e analisado por HPLC-Fluorescência.

Lopez de Alda e Barceló (2001b), em trabalho semelhante, realizaram o condicionamento de cartucho (C18, 500mg, 3 mL) com 7 mL de acetonitrila, 5 mL de metanol e 5 mL de água ultra-pura, com vazão de 3 mL min^{-1} . As amostras foram filtradas em membranas de fibra de vidro de 0,45 μm e passadas no cartucho com vazão média de 5 mL min^{-1} . Após a eluição, os cartuchos foram lavados com 5 mL de H_2O , na mesma vazão, e secos a vácuo. Os estrogênios foram eluídos com duas porções de 4 mL de acetonitrila, secos sob fluxo de nitrogênio e reconstituídos com metanol. Para 100 mL de amostra marcada com 10 μL de estradiol (E2), etinil-estradiol (EE2) e estrona (E1), foram obtidas recuperações de 100%, 97% e 98%. Em outro trabalho (LOPEZ de ALDA e BARCELÓ, 2001a), os autores relataram recuperações de 104% (E2), 111% (EE2) e 112% (E1), com desvio padrão relativo máximo da ordem de 3,4%, para determinações realizadas em triplicata.

Lopes *et al.* (2008) apresentaram a validação de dois métodos para a determinação por HPLC-UV e HPLC-Flu de estrona e 17 β -estradiol em águas naturais e tratadas. Foram utilizados cartuchos C18 (500 mg, 6 mL) condicionados com 6 mL de Hexano, 2 mL de acetona, 6 mL de metanol e 10 mL de água em pH 3. Em cada análise, meio litro de amostra previamente filtrada por filtros de fibra de vidro foi passada pelo cartucho, que posteriormente passou por processo de limpeza da amostra (*clean up*) com 10 mL de mistura $\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH}$ (9:1, v/v). Os cartuchos foram secos sob vácuo por 1 hora e eluídos com 4 mL de acetona sob ação da gravidade e o extrato foi evaporado até secura e ressuspendido em 600 μL de acetonitrila, sendo então novamente filtrados em filtro de 0,45 μm e, finalmente, encaminhado para análise. Para E1 a recuperação foi entre 69% e 103% para concentrações entre 0,6 e 5 $\mu\text{g L}^{-1}$, enquanto que para E2 a recuperação foi entre 83% e 139% para concentrações entre 7,5 e 50 ng L^{-1} .

Além dos métodos específicos anteriormente comentados, em seu artigo de revisão, Gorog (2011) faz referência a diversos métodos baseados em preparo de amostras ambientais para determinação de hormônios através de extração em fase sólida com posterior determinação por diferentes métodos cromatográficos.

2.2.2 Parâmetros de controle analítico

Não há um consenso universal a respeito de quais são e como devem ser medidos os parâmetros de mérito que caracterizam um procedimento analítico, principalmente quando se trata de técnicas específicas. No Brasil, dispõe-se de dois

documentos que regulam este assunto: RE nº 899, de 29/05/2003, uma resolução da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), e um documento do Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO) que contém orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos, DOQ-CGCRE-008 de março de 2003. Além disso, é possível ainda ser acessado na internet um Guia para Qualidade em Química Analítica, produzido pela Eurachem e traduzido pela ANVISA (2006), que aborda a “Seleção, uso e interpretação de programas de ensaios de proficiências (EP) por laboratórios (2000)”. Outros autores (RIBANI *et al.*, 2004; CASSIANO *et al.*, 2009) também apresentam uma discussão sobre parâmetros de relevância na validação de métodos cromatográficos, usualmente incluindo seletividade, linearidade, faixa de aplicação, precisão, exatidão, limite de detecção, limite de quantificação e robustez.

2.2.2.1 Seletividade

Segundo Ribani *et al.* (2004), é a seletividade o parâmetro que garante que o pico de resposta seja exclusivamente do composto de interesse. Este parâmetro pode ser qualitativamente avaliado comparando-se o cromatograma da matriz isenta da substância de interesse e da matriz adicionada do padrão em questão, processo este em que nenhum interferente deve eluir juntamente com a substância de interesse.

2.2.2.2 Linearidade

É avaliada através da correlação entre a área ou a altura do pico e a massa ou a concentração da espécie de interesse, sendo expressa geralmente por uma equação de reta chamada de curva analítica, formada por no mínimo 5 pontos excluindo-se o ponto zero devido a possíveis erros associados (RIBANI *et al.*, 2004). Na prática, a equação de reta pode ser obtida a partir da regressão linear de um conjunto de dados experimentais, onde o coeficiente de correlação (R) permite uma estimativa da qualidade da curva obtida. A ANVISA (2003) recomenda um R superior a 0,99 e o INMETRO (2003) um valor superior a 0,90.

2.2.2.3 Faixa de aplicação

A faixa de aplicação corresponde ao intervalo de concentração que permite uma variação aceitável na resposta da espécie de interesse. Há várias recomendações diferentes para esta análise, destacando as recomendações da ANVISA (2003) e da Conferência Internacional de Harmonização (ICH, 1995), que sugerem uma variação máxima de $\pm 20\%$ em relação ao valor declarado ou esperado. Em ambos os casos os ensaios são realizados em replicatas com cinco níveis de concentração, juntamente com

seus respectivos desvios. A IUPAC recomenda seis ou mais níveis de concentração (THOMPSON *et al.*, 2002).

2.2.2.4 Sensibilidade

A sensibilidade é um parâmetro que demonstra a variação da resposta em função da concentração do analito. Pode ser expressa pela inclinação da curva de regressão linear de calibração. A sensibilidade depende da natureza do analito e da técnica de detecção utilizada (INMETRO 2003).

2.2.2.5 Precisão

A precisão é a medida dos erros aleatórios da análise e representa a dispersão dos resultados obtidos em uma série de medidas de uma amostragem múltipla de uma mesma amostra (ANVISA, 2003). Devido ao pequeno número de determinações experimentais, geralmente a precisão é expressa através da estimativa do desvio padrão absoluto (s) (INMETRO, 2003). Ela ainda pode ser expressa pelo desvio padrão relativo (RSD), também conhecido como coeficiente de variação (CV) (ANVISA, 2003), ou através do intervalo de confiança da média (RIBANI *et al.*, 2004). Segundo a Associação Grupo de Analistas de Resíduos de Pesticidas (GARP, 1999), um limite aceitável para análise de micropoluentes é de 20%.

2.2.2.6 Exatidão

Exatidão é definida como sendo a proximidade entre o resultado de um ensaio e um valor de referência aceito como verdadeiro, sendo normalmente avaliado por materiais de referência, comparação com resultados de técnicas estabelecidas, participação em comparações interlaboratoriais, realização de ensaios de recuperação e adição de padrão (INMETRO, 2003; ANVISA, 2003, THOMPSON *et al.*, 2002).

Segundo a ANVISA (2003) “a exatidão é calculada como porcentagem de recuperação da quantidade conhecida do analito adicionado à amostra, ou como a diferença porcentual entre as médias e o valor verdadeiro aceito, acrescida dos intervalos de confiança”. Seu valor é expresso pela relação entre a concentração média determinada e a concentração teórica correspondente, recomendando-se a verificação próxima do nível de quantificação do método, próxima a concentração máxima permitida pelo método em teste e outra no valor médio, com as análises sendo feitas em triplicata para cada ponto.

Segundo o GARP (1999) os intervalos aceitáveis na recuperação para análise de resíduos geralmente estão entre 70 e 120%, com precisão de até $\pm 20\%$, porém,

dependendo da complexidade analítica da amostra, este valor pode ser de 50 a 120%, com precisão de até $\pm 15\%$.

2.2.2.7 Limite de detecção

A ANVISA e a IUPAC definem o limite de detecção (LD) como a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectado, porém, não necessariamente quantificada, sob as condições experimentais estabelecidas (ANVISA, 2003; THOMPSON *et al.*, 2002). O LD não é amplamente aceito devido às muitas controvérsias originadas pelas diferentes definições existentes, mas é interessante saber o valor mínimo de concentração que pode ser detectado pelo método, principalmente na análise de amostras com baixos níveis de analito (INMETRO, 2003).

Paschoal *et al.* (2008) destacam três maneiras diferentes de se estabelecer o LD, sendo eles, o método visual, a razão sinal ruído e a partir da curva de calibração.

Pelo método visual considera-se o limite de detecção como a menor concentração do analito que permite de forma inequívoca a identificação da sua presença em relação ao ruído (RIBANI *et al.*, 2004), porém a ANVISA (2003) orienta essa forma de análise somente para métodos não instrumentais. Já em relação à HPLC a orientação é para que se leve em consideração o sinal produzido por concentrações cada vez menores do analito até que se obtenha uma razão de três vezes na relação sinal ruído, ou se use parâmetros da curva analítica para essa determinação, onde o LD é dado pela razão entre a estimativa do erro do coeficiente linear e a inclinação da curva multiplicada por 3.

2.2.2.8 Limite de quantificação

Um consenso mais claro é encontrado quando se fala em limite de quantificação (LQ), que é definido como a menor concentração do analito de interesse em uma amostra que pode ser quantitativamente determinado, com valores aceitáveis de precisão e exatidão (ANVISA, 2003; INMETRO, 2003; THOMPSON *et al.*, 2002). Porém, novamente encontram-se divergências quando se analisa a sua forma de determinação. Para a ANVISA ele deve ser determinado pela mesma razão do LD, porém multiplicado por dez. Para o INMETRO deve-se levar em conta que o analito deve ser determinado com um nível aceitável de precisão e exatidão, mas sem fazer referência de quanto seria um valor aceitável para análises em geral. A IUPAC (THOMPSON *et al.*, 2002) salienta que às vezes esse valor é arbitrado aleatoriamente como 10 % do desvio padrão relativo (RSD) ou um múltiplo fixo como 2, 3 ou 10 x LD, não sendo uma prática recomendada pela entidade.

Segundo parâmetros da United States Food and Drug Administration (US-FDA) (2001) o sinal deve apresentar uma razão sinal/ruído de pelo menos 5 vezes, e deve apresentar uma reprodutibilidade com precisão de 20 % e exatidão de 80 a 120%.

2.2.2.9 Robustez

A robustez de um método analítico é a medida de sua capacidade em resistir a pequenas e deliberadas variações dos parâmetros analíticos, indicando a sua confiabilidade em condições normais de uso. Para avaliar a robustez podem ser feitas algumas alterações deliberadas no método analítico, tais como: pH, força iônica, proporção da fase móvel, temperatura da coluna, vazão da fase móvel, diferentes colunas (lotes e/ou fabricantes), procedimentos no preparo das amostras, entre outras (ANVISA, 2003; INEMETRO, 2003).

2.3 TRATAMENTO DE ÁGUAS CONTAMINADAS POR ESTROGÊNIOS

Recentemente, vários autores têm afirmado que processos convencionais de tratamento d'água apresentam escassa utilidade na remoção de estrogênios (ZORITA *et al.*, 2009; KRAUZE *et al.*, 2009, BOLONG *et al.*, 2009; YING *et al.*, 2009, PEREIRA *et al.*, 2011b), confirmando os dados apresentados na Tabela 4.

Os estudos desenvolvidos por Ying *et al.* (2009), por exemplo, demonstram que desreguladores endócrinos (xenostrogênios e estrogênios) têm aparecido nos efluentes das estações de tratamento de esgoto, em concentrações da ordem de ng L^{-1} e $\mu\text{g L}^{-1}$. Se considerarmos que em muitas localidades o esgoto doméstico não é submetido a nenhum tipo de tratamento, sendo despejado *in natura*, a problemática da contaminação por substratos deste tipo alcança dimensões realmente preocupantes.

Em razão da falta de alternativas eficientes, muitos esforços têm sido dedicados ao desenvolvimento de novas propostas de tratamento, grande parte das quais é fundamentada em processos físicos (adsorção por carvão ativo e remoção por membranas), biodegradação e processos avançados de oxidação (AOP).

2.3.1 Adsorção em carvão

Segundo Veras (2006), o uso do carvão em pó apresenta vantagens como a flexibilidade no processo de dosagem e menor custo de investimento quando comparado com o carvão granular. Porém, apresenta diversas desvantagens operacionais, como elevado custo quando grandes dosagens são requeridas por um longo período de tempo (situação encontrada em estações de tratamento de efluentes), impossibilidade de regeneração do produto, baixa remoção de carbono orgânico total, aumento da

dificuldade de disposição do lodo e dificuldade de remover completamente as partículas de carvão da água.

O carvão ativado granular aparece como opção em relação ao carvão em pó, porém se carvão ativado em pó (CAP) ou carvão ativado granular (CAG) forem destinados diretamente no solo podem causar problemas de contaminação do solo e águas subterrâneas, devido à lixiviação dos compostos adsorvidos. (VERAS, 2006; SNYDER *et al.*, 2007). Outro problema, de ordem estética, está relacionado à cor preta liberada pelo carvão quando os resíduos são lançados em corpos receptores de águas.

Rudder *et al.* (2004) realizaram um estudo comparando a eficiência de remoção de 17 α -etinilestradiol (EE2) em reatores de areia, CAG e MnO₂ granular. Eles observaram taxas de remoção do estrogênio de 17,3% para areia, >99,8% para CAG e 81,7% para MnO₂. Os autores salientam que os testes foram realizados com concentrações de EE2 da ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$, mas que concentrações da ordem de ng L^{-1} , encontradas na natureza, diminuiriam a capacidade de absorção pelo CAG, exigindo que ele fosse substituído ou reativado com frequência, tornando-se uma técnica pouco viável financeiramente.

Usando diferentes substâncias adsorventes, entre as quais, CAG, Zhang e Zhou (2005) testaram a eficiência na remoção de estrona (E1) e 17 β -estradiol (E2) presente em água. O equilíbrio químico para remoção do E2 foi atingido após 125 horas de contato. O autor relata ainda que parâmetros como concentração do adsorvente, pH, salinidade do meio, presença de ácidos húmicos e surfactantes interferem no processo de adsorção, sendo que a capacidade de adsorção do CAG é reduzida com o aumento na concentração do adsorvente, e pela presença de ácidos húmicos e surfactantes.

Em seu trabalho sobre remoção de 17 β -estradiol (E2) usando diferentes tipos de carvões ativados produzidos no Brasil, Veras (2006) obteve remoção superior a 95% usando carvão de coco. Outros três tipos de carvão testados apresentaram eficiências na remoção da ordem de 80 e 90%.

Em um estudo de remoção fundamentado no uso de carvão ativado em pó (CAP) e granular (CAG) foram observadas remoções superiores a 90% para os compostos E1, E2, E3 e EE2, após 5 horas de contato. Embora o CAG possa ser regenerado, o gasto de energia se mostra bastante elevado, o que faz com que a sua disposição em aterros deva ser avaliada como alternativa. Desta forma, relações custo/benefício devem ser analisadas cuidadosamente quando se trata da remoção de micropoluentes (SNYDER *et al.*, 2007)

Para contornar problemas relacionados com a deterioração do carvão durante o uso, Liu *et al.* (2009) sugerem a associação da adsorção em carvão com técnicas de

filtração em membrana, processo combinado que tem permitido bons resultados na remoção de desreguladores endócrinos de águas residuárias e de esgoto.

2.3.2 Separação mediada por membranas

Estudos envolvendo o uso de membranas para remoção de desreguladores endócrinos, em especial os estrogênios, têm aumentado significativamente nos últimos anos.

Na Tabela 5 são apresentados alguns trabalhos e os resultados percentuais obtidos na rejeição dos estrogênios E1, E2, E3 e EE2 por membranas.

Amorim (2007) destaca como vantagens do processo o fato dos sistemas de membranas se apresentarem sob forma compacta e de fácil automatização, com elevada capacidade na separação de partículas sólidas de pequenas dimensões e compostos orgânicos e inorgânicos dissolvidos. A autora salienta ainda algumas limitações, com destaque para a necessidade de pré-tratamento das membranas de acordo com as características da água bruta e para os problemas de deposição de solutos nas membranas, o que pode provocar entupimento de poros e compactação, diminuindo a eficiência ou até inutilizando a membrana. Outro fator importante refere-se a custos elevados e altos consumos de energia na utilização deste tipo de tecnologia.

Tabela 5. Estrogênios e suas respectivas rejeições em estudos de remediação por membranas.

Composto	Rejeição (%)	Referencia
Estrona (E1)	46-95	CHANG <i>et al.</i> (2003)
	10-95	NGHIEM <i>et al.</i> (2004)
	42-44	YOON <i>et al.</i> (2006)
	> 95%	CARTINELLA <i>et al.</i> (2006)
17 β -estradiol (E2)	20-90	NGHIEM <i>et al.</i> (2004)
	29-83	KIMURA <i>et al.</i> (2004)
	<5-40	YOON <i>et al.</i> (2006)
	> 95	CARTINELLA <i>et al.</i> (2006)
	75 - 85	MOONS e BRUGGEN (2006)
Estriol (E3)	\approx 32	YOON <i>et al.</i> (2006)
17 α -etinilestradiol (EE2)	34-60	YOON <i>et al.</i> (2006)

Fonte: Adaptado de LIU *et al.*, 2009.

Yoon *et al.* (2006), usando membranas de nanofiltração e ultrafiltração, testaram a eficiência de retenção de 27 substâncias, envolvendo produtos farmacêuticos de higiene pessoal e desreguladores endócrinos, dentre os quais os estrogênios E1, E2, E3 e EE2. Amostras de água fortificada de rios canadenses foram utilizadas no experimento, empregando-se LC/MS/MS como técnica de controle. De maneira geral, o processo de

nanofiltração permitiu remoção apenas parcial dos estrogênios (retenção entre 40 e 60%), enquanto que a ultrafiltração permitiu retenção significativamente menor.

Usando duas membranas comerciais com propriedades diferenciadas Moons e Bruggen (2006) obtiveram valores médios de retenção de 75% (membrana 1) a 85% (membrana 2) para estradiol e 83% (membrana 1) a 65% (membrana 2) para estrona. De acordo com os autores, entre as membranas analisadas, aquela que retém melhor o estradiol comporta-se de forma pior na retenção da estrona. A este respeito, Yoon *et al.* (2006) e Moons e Bruggen (2006) sugerem ser difícil a seleção de uma membrana que consiga reter ao mesmo tempo estrona e estradiol.

Jin *et al.* (2007) propuseram o uso de um sistema de filtração fundamentado no uso de uma membrana polimérica modificada com fulereno. Embora elevadas taxas de remoção tenham sido observadas (95%), o sistema se mostra extremamente oneroso, ao mesmo tempo em que o seu caráter não destrutivo implica na necessidade de processos auxiliares, orientados à disposição ou degradação da fase concentrada.

2.3.3 Biodegradação

Entre os sistemas biológicos de tratamento de águas residuárias utilizados atualmente, provavelmente o processo de lodo ativado seja o mais comum (LIU *et al.*, 2009)

Svenson *et al.* (2003) avaliaram a evolução da estrogenicidade em 20 estações de tratamento de esgoto da Suécia, selecionadas entre sistemas de tratamento químico e lodo ativado. Eles concluíram que o tratamento de águas residuais reduziu a estrogenicidade, sendo que as estações operando com lodo ativado apresentaram-se mais eficazes que filtros biológicos. As estações utilizando precipitação química com sais de ferro ou alumínio, sem tratamento biológico, mostraram pouca efetividade na remoção. Mesmo assim, os valores médios correspondentes à remoção de E1, E2 e EE2 foram de 81%, 28% e 18%, respectivamente, valores estes medidos por meio de bio-ensaios.

Dados indicando a maior eficiência do sistema de lodo ativado que filtros biológicos já haviam sido relatados por Ternes *et al.* (1999), em um estudo realizado em estações de tratamento da Alemanha, Canadá e Brasil. Na estação de tratamento de esgotos da Penha (RJ), os estrogênios naturais 17 β -estradiol e estrona foram detectados em concentrações médias de 21 e 40 ng L⁻¹. Quanto a taxa de remoção, os autores citam que 83% da estrona e 78% do 17 α -etinilestradiol presentes no esgoto bruto foram removidos pela passagem através da estação de tratamento.

A degradação de estrogênios por um processo biológico fundamentado em sistema de lodo ativado com bactérias nitrificantes (NAS, do inglês *nitrifying activated sludge*) e bactérias oxidantes de amônia foi avaliado por Shi *et al.* (2004). De acordo

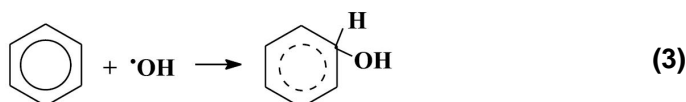
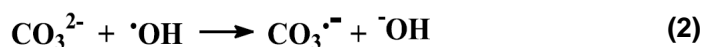
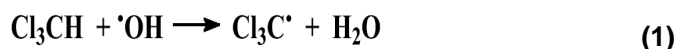
com os resultados apresentados, os dois procedimentos conseguem degradar estrogênios sendo que o tempo destinado para a degradação varia de acordo com o estrogênio analisado e da bactéria utilizada. Entre os estrogênios E1, E2, E3 e EE2 os melhores resultados foram obtidos para E2, com remoção de 98% em um período de 2 horas usando NAS. Porém, parte do E2 foi convertido em E1. A degradação de E1 gerou intermediários que só foram completamente degradados após 72 horas. A degradação de EE2 com NAS só foi possível após um período de 6 dias e os subprodutos gerados na degradação de EE2 e E3 não foram mais detectados após 72 horas.

A transformação de E2 em E1 em sistemas de tratamento por lodos ativados também é relatada por outros autores (BARONTI *et al.*, 2000; JOHNSON *et al.*, 2007).

2.3.4 Processos avançados de oxidação (AOP)

Dentre os novos métodos desenvolvidos com o objetivo de remediar águas contaminadas por poluentes persistentes, presentes em baixa concentração, merecem destaque os processos avançados de oxidação (AOP), os quais são fundamentados na geração do radical hidroxila de caráter fortemente oxidante ($E^{\circ} = 2,8 \text{ V} \times \text{EPH}$). Em geral, admite-se que os processos mediados por radical hidroxila podem levar à completa mineralização dos compostos alvo (CORDEIRO *et al.*, 2004, ANDREOZZI *et al.*, 1999), usualmente com constantes de velocidade de mineralização da ordem de 10^6 a $10^9 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ (KIM E CHOI, 2002; MALATO *et al.*, 2009).

De forma simplificada, os radicais hidroxilas gerados podem degradar os compostos de interesse por três mecanismos principais: abstração de hidrogênio (Eq. 1), transferência de elétrons (Eq. 2) ou adição radicalar (Eq. 3). Dessa forma ocorre a oxidação de substratos mediante a formação de radicais livres que reagem facilmente com o oxigênio dissolvido, formando espécies instáveis que fragmentam até alcançar, eventualmente, a sua completa mineralização (MORAIS, 2005, KUNZ *et al.*, 2002).



Sabe-se ainda que os processos avançados de oxidação podem ocorrer em meio homogêneo ou heterogêneo e em sistemas irradiados ou não (MUNTER, 2001). De

acordo com as condições empregadas, os processos são classificados conforme mostrado na Figura 2.

As vantagens mais significativas deste tipo de procedimento estão representadas pela grande eficiência na degradação de compostos orgânicos tóxicos e persistentes, sem a necessidade de recorrer à utilização de outros oxidantes químicos de maior potencial de contaminação (PIRKANNIEMI e SILLANPAA, 2002; PÊRA-TITUS *et al.*, 2004).

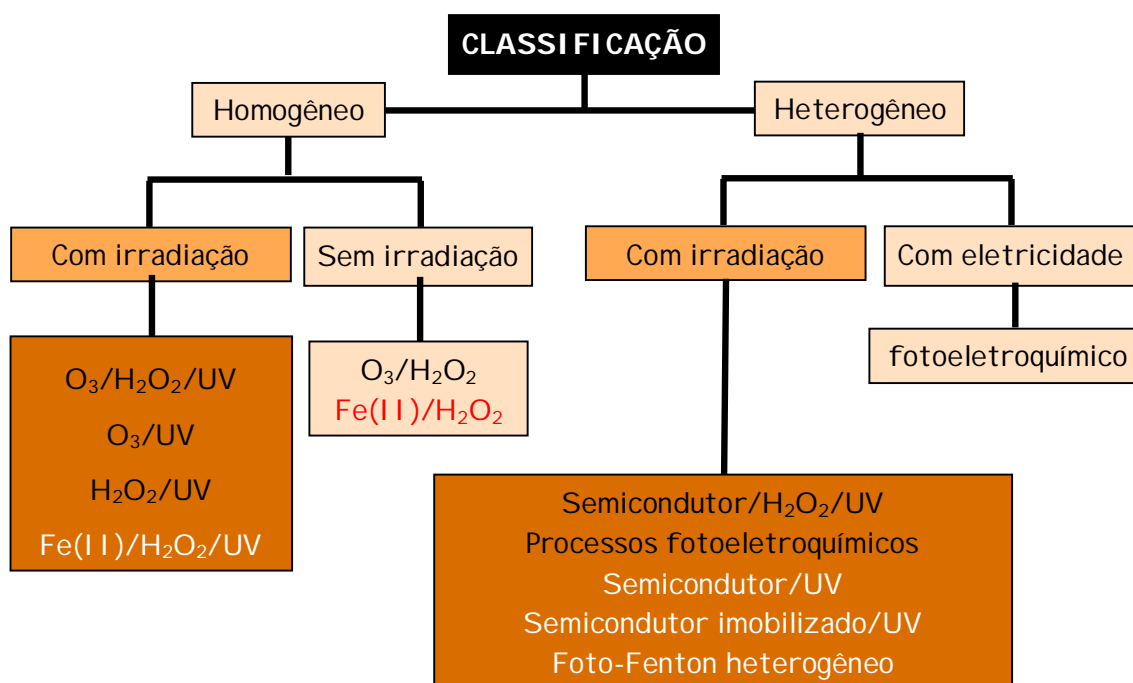


Figura 2. Classificação dos principais processos avançados de oxidação

Muitos estudos envolvendo a degradação de desreguladores endócrinos por AOPs têm sido recentemente publicados. Entretanto, relativamente poucos trabalhos tratam da degradação de estrogênios. Dentre os processos citados na literatura é possível destacar sistemas fundamentados em fotólise UV (LIU e LIU, 2004; MAZELLIER *et al.*, 2008; DÍAZ *et al.*, 2009; LEECH *et al.*, 2009; BOURCIER *et al.*, 2010; CHOWDHURY *et al.*, 2010; ATKINSON *et al.*, 2011; CAUPOS *et al.*, 2011; CHOWDHURY *et al.*, 2011; SOUISSI *et al.*, 2012; TRUDEAU *et al.*, 2012), peroxidação assistida por radiação ultravioleta (LINDEN *et al.*, 2007; ROSENFELDT *et al.*, 2007; ZHANG *et al.*, 2010;), ozonização (HUBER *et al.*, 2003; TERNES *et al.*, 2003; ALUM *et al.*, 2004; HUBER *et al.*, 2004, 2005; IRMAK *et al.*, 2005; WESTERHOFF *et al.*, 2005;

BILA *et al.*, 2007b; FERREIRA, 2008; MANIERO *et al.*, 2008; BROSEÚS *et al.*, 2009; LIN *et al.*, 2009 PEREIRA *et al.*, 2011a), eletrólise (PAUWELS *et al.*, 2006; MURUGANANTHAN *et al.*, 2007); fotocatalise heterogênea com catalisadores em suspensão (OHKO *et al.*, 2002; MALYGINA *et al.*, 2005, ZHANG *et al.*, 2007; MAI *et al.*, 2008; ZHANG e ZHOU, 2008; BENOTTI *et al.*, 2009, LI PUMA *et al.*, 2010, SUN *et al.*, 2010; NASUHOGLU *et al.*, 2012; HAN *et al.*, 2012; KONTANTOU *et al.*, 2012; Frontistis *et al.*, 2012), fotocatalise heterogênea com catalisadores imobilizados (COLEMAN *et al.*, 2000, 2004, 2005a, 2005b; 2007; TANIZAKI *et al.* 2002; NAKASHIMA *et al.*, 2002 e 2003; MITAMURA *et al.*, 2004; KONTANTOU *et al.*, 2012), processos Fenton e foto-Fenton homogêneo (FENG *et al.*, 2005a, 2005b; FRONTISTIS *et al.*, 2011) e processos Fenton e foto-Fenton heterogêneo (ZHAO e HU, 2008; ZHAO *et al.*, 2008; 2010a, 2010b).

2.3.4.1 Fotocatálise heterogênea em suspensão

Dentre os diferentes processos avançados de oxidação a fotocatalise heterogênea têm encontrado grande potencial de aplicação na remediação ambiental, sendo capaz de provocar a degradação de uma grande quantidade de poluentes (ZHANG *et al.*, 2012).

De forma simplificada (Figura 3), a fotocatalise heterogênea ocorre com a absorção de um fóton pela partícula do semiconductor, tendo este fóton energia igual ou superior à do seu *bandgap* característico. Este processo leva à formação de um par elétron-lacuna (h^+/e^-), através da promoção de um elétron da banda de valência (BV) para a banda de condução (BC) (GRELA *et al.*, 2001).

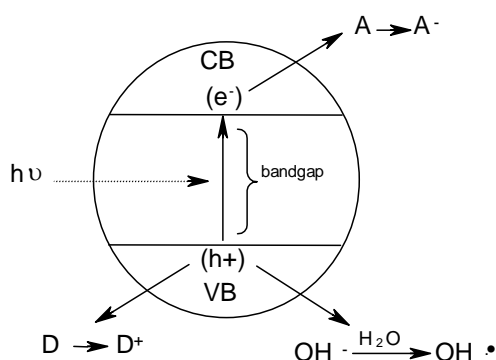
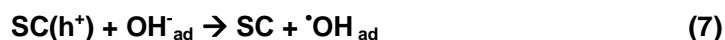
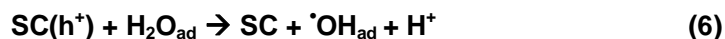
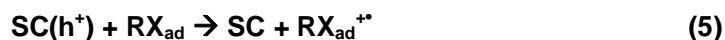


Figura 3. Representação esquemática dos princípios da fotocatalise heterogênea. (A: Espécie aceptora; D: Espécie doadora)

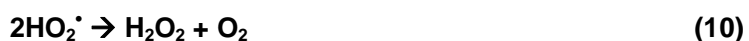
Fonte: Kunz *et al.*, 2002.

Estudos recentes têm buscado elucidar de forma detalhada a cinética e os mecanismos de transferência de elétrons envolvidos nesses processos, porém, mesmo utilizando técnicas modernas de monitoramento para compreender etapas como absorção do fóton, transporte e aprisionamento de carga, dinâmica de transferência do par elétron-lacuna fotogerado, os resultados ainda não são conclusivos e o processo tem se mostrado extremamente complexo (CARP *et al.*, 2004; HENDERSON, 2011; ZHANG *et al.*, 2012).

De forma genérica, é bem aceito que o par elétron/lacuna gerado nestes processos (Eq. 4) pode participar de reações redox com inúmeras espécies químicas, pois a lacuna produzida na banda de valência é fortemente oxidante e o elétron na banda de condução é moderadamente redutor. Em sistemas aquosos, os constituintes mais importantes são a água, o oxigênio molecular e outras espécies dissolvidas, e, eventualmente, contaminantes a serem removidos do sistema. As lacunas podem reagir diretamente com o poluente adsorvido (RX_{ad}) no semicondutor (Eq. 5), no entanto, normalmente a reação processa-se em meio aquoso, favorecendo a oxidação das moléculas de água (Eq. 6) ou grupos hidroxila superficiais (Eq. 7) pela lacuna fotogerada. Consequentemente, formam-se radicais hidroxila ($\bullet OH$) na superfície do catalisador (GRELA *et al.*, 2001).



Adicionalmente, os elétrons na banda de condução, livres ou presos na superfície, reduzem o O_2 adsorvido para formar radical superóxido (Eq. 8), o qual, subsequentemente, gera H_2O_2 (Eq. 9 e 10), o que reduz a probabilidade de recombinação do par elétron-lacuna (Eq. 11) (GRELA *et al.*, 2001):



Segundo alguns autores (NOGUEIRA e JARDIM, 1998; GIRALDO *et al.*, 2001; CARP *et al.*, 2004) um bom catalisador, para ser utilizado em estudos de degradação,

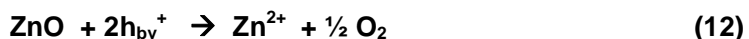
deve adsorver simultaneamente substâncias que possam ser oxidadas e reduzidas. Além disso, ele deve apresentar algumas características, tais como:

1. Ser fotoativo
2. Ser de baixo custo
3. Utilizar fótons da região do visível ou UV próximo.
4. Ser fotoestável (sofrer pouca fotocorrosão)
5. Ser biologicamente e quimicamente inerte.

Por possuir todas as características antes mencionadas, o dióxido de titânio é o fotocatalisador mais utilizado em estudos de descontaminação ambiental (NOGUEIRA e JARDIM, 1998), normalmente propiciando a completa mineralização de uma série de poluentes, em uma extensa faixa de pH (HERMANN *et al.*, 1993; NOGUEIRA e JARDIM, 1998).

O TiO₂ comercializado pela Degussa (P25), contém aproximadamente 75% de TiO₂ sob a forma anatase e 25% sob a forma rutilo, com absorção em 384 e 410 nm, respectivamente. Porém, a maior atividade catalítica é apresentada pela forma anatase (CARP *et al.*; 2004). Sob essa forma, sabe-se que o TiO₂ proporciona uma destruição não seletiva de resíduos orgânicos e inorgânicos em condições normais de temperatura e pressão, com completa mineralização dos compostos e sem geração de produtos policíclicos. Adicionalmente, este fotocatalisador propicia a oxidação de poluentes na faixa de ppb, possui capacidade para apresentar simultaneamente reações de oxidação e redução e permite bons resultados em diferentes tipos de reatores (CARP *et al.*, 2004; MALATO *et al.*, 2009).

O ZnO, com *bandgap* próximo a 3,2 eV, é um fotocatalisador menos utilizado em estudos de degradação (REHMAN *et al.*, 2009), embora, em alguns casos, apresente maior eficiência do que o TiO₂. No entanto, este semicondutor é mais reativo, podendo sofrer fotocorrosão (Eq. 12) ou dissolução em meio fortemente ácido (Eq. 13) ou básico (Eq. 14) (LI e HANEDA, 2003).



A literatura apresenta poucos estudos de degradação de hormônios empregando TiO₂ em suspensão e luz artificial e, até onde pudemos investigar, há somente dois relatos recente na literatura sobre o uso de ZnO em processos fotocatalíticos orientados

à degradação de estrogênios. Em relação aos trabalhos envolvendo dióxido de titânio em suspensão é possível destacar os trabalhos apresentados a seguir.

Ohko *et al.* (2002) reportaram degradação superior a 99% para o composto E2 utilizando-se TiO_2 em suspensão (1 g L^{-1}) e radiação externa proveniente de uma lâmpada de Hg-Xe de 200 W (365 nm), com degradação do anel fenólico, considerado responsável pela estrogenicidade do composto.

Em ensaios de fotocatalise para E1 e E2, Zhang *et al.* (2007) verificaram que a concentração inicial do estrogênio não interfere significativamente na taxa de degradação desses compostos e que o uso de lâmpada com emissão em 253,7 nm proporciona degradação superior à lâmpada com emissão entre 238-579 nm. Trata-se de uma observação que sugere uma importante contribuição do processo de fotólise. Em relação ao pH, uma melhora na degradação foi observada desde o pH 2 até 7,6, a partir do qual a eficiência diminui. Esta observação é coerente com relatos da literatura, que demonstram que a adsorção do E2 na superfície do TiO_2 é maior em meio básico (MALYGINA *et al.*, 2005). Quanto à concentração de TiO_2 , melhores degradações foram sendo obtidas à medida que a concentração de TiO_2 aumentou até o limite de 2 g L^{-1} . A partir deste valor não foram observados efeitos significativos.

Buscando elucidar os mecanismos de reação, estudos orientados à identificação de subprodutos formados durante a degradação de 17β -estradiol em presença de TiO_2 foram realizados por Mai *et al.* (2008), utilizando-se irradiação entre 365 e 370 nm. Seis intermediários foram identificados quando a degradação ocorre em pH básico e um sétimo quando a degradação ocorre em pH neutro. Todas as estruturas propostas têm sua degradação iniciada pelo grupo OH fenólico presente na molécula de E2.

Nessa mesma época foram publicados por Mazellier *et al.* (2008) resultados de degradação de E2 e EE2 envolvendo processos de fotólise UVA e UVC sendo sugerido que, em ambos os casos, a degradação de E2 inicia-se pela hidroxila não aromática, sendo que a hidroxila aromática, quando degradada leva à formação de quinonas. Para EE2 somente compostos quinônicos foram observados, porém não foi avaliada a estrogenicidade dos subprodutos formados nesse processo.

Liu e Liu (2004) já haviam avaliado o efeito da fotólise por luz UVA e UVC na degradação dos estrogênios E1 e E2, observando uma maior eficiência quando foi utilizada radiação UVC.

Utilizando uma mistura dos estrogênios E1, E2, EE2 e E3, Li Puma *et al.* (2010) observaram efeito de fotólise na degradação dos estrogênios, com maior influência da radiação UVC em relação à luz UVA, refletindo também em uma fotocatalise mais rápida quando empregada radiação UVC. Porém, uma análise por LC/MS/MS dos subprodutos gerados (BOURCIER *et al.*, 2010) sugerem que todas as espécies transientes derivam de

processos de degradação envolvendo a parte não fenólica das moléculas em estudo, sempre se preservando o caráter fenólico dos fragmentos formados.

Empregando as mesmas condições usadas por Mai *et al.* (2008), Sun *et al.* (2010) verificaram a existência de 3 caminhos diferentes de degradação do EE2 por fotocatalise UVA, quando são empregados diferentes valores de pH e na presença/ausência de metanol, geralmente utilizado como solvente para preparo das soluções padrão dos estrogênios. Neste caso, o caminho principal sugere a degradação sendo iniciada pela hidroxila fenólica do estrogênio.

Recentemente Nasuhoglu *et al.* (2012) avaliaram a remoção de EE2 em amostras de águas residuárias da indústria farmacêutica empregando TiO_2 e radiação UVC. Após 30 minutos de reação 48% do EE2 foi removido do efluente, fator atribuído à complexidade da matriz. Na ausência de catalisador a eficiência foi de aproximadamente 29%.

Embora esses resultados apresentados demonstrem boa eficiência da fotocatalise heterogênea em amostras aquosas, esta apresenta alguns inconvenientes que dificultam a sua aplicação em grande escala, dentre os quais é possível salientar (HERMANN *et al.*, 1993; CARP *et al.*, 2004):

- a) A necessidade do uso de radiação artificial, o que aumenta consideravelmente o custo do processo,
- b) A necessidade de agentes sequestrantes de elétrons (tipicamente oxigênio), de maneira a minimizar o processo de recombinação do par elétron/lacuna,
- c) O baixo rendimento quântico do processo quando utilizada grande quantidade de semicondutor, em função do aumento da opacidade do meio.
- d) A dificuldade de remoção do semicondutor, em razão do pequeno tamanho das partículas.

Em relação ao problema de escala, destaque pode ser dado ao trabalho de Benotti *et al.* (2009) que avaliaram a degradação fotocatalítica de diversas substâncias, entre as quais estrogênios e fármacos, utilizando um sistema piloto fundamentado no uso de suspensões de TiO_2 e sistema de microfiltração fundamentado no uso de membrana cerâmica. Os resultados deste trabalho demonstraram ser possível a eliminação dos hormônios e a remoção da estrogenicidade, com baixo consumo de energia.

Quanto ao custo do processo em função do uso de radiação artificial e da necessidade de remoção do catalisador, alternativas vem sendo propostas, como o uso de radiação solar (MALATO *et al.*, 1998), e com o uso de semicondutores imobilizados (SHEPHARD *et al.*, 2002; WANG *et al.*, 2009; KATHAEE *et al.*, 2009),

Estudos de degradação fotocatalítica assistida por luz solar apontam para uma significativa redução de custos, com capacidade de degradação comparável à dos sistemas operados com radiação artificial (PARDESHI E PATIL, 2009).

Com uma incidência de radiação na região do ultravioleta da ordem de 20 a 30 W m², o sol fornece de 0,2 a 0,3 mol de fótons por m⁻² h⁻¹, na faixa de 300 a 400 nm (MALATO *et al.*, 2009). Entretanto, é importante considerar parâmetros como hora do dia, estação do ano e localização geográfica para uma melhor determinação dos valores de radiação UV (SIRTORI, 2006).

Chowdhury *et al.* (2010) estudaram a degradação de estrona em solução aquosa sob luz solar artificial, observando remoção quase total da estrona após 6 horas de tratamento e mineralização próxima a 30%. Caupos *et al.* (2011) também estudaram a degradação da estrona em solução aquosa na presença de luz solar, observando degradações próximas a 50% após 8 horas de exposição, com uma pequena melhora em presença de diferentes tipos de ácidos fúlvicos. Entretanto a análise por HPLC-MS³ demonstrou o surgimento de um único subproduto, resultante da redução do grupo cetônico para a função álcool, mantendo a estrutura do grupo fenólico inalterada.

Zhang e Zhou (2008) compararam a eficiência de degradação de E1, E2 e EE2 em amostras de esgoto através de fotocatalise, utilizando TiO₂, luz solar e radiação UVC artificial. Neste estudo foi comprovada uma maior eficiência de degradação do sistema operado com radiação artificial, observando-se, ainda, taxas de degradação comparável com as observadas em estudos envolvendo soluções padrão aquosas. Adicionalmente, os autores recomendam a realização de estudos voltados para a remoção do catalisador do meio reacional.

Em relação ao ZnO, Behnajady *et al.* (2006) relatam que este fotocatalisador possui um bom aproveitamento da luz visível, com absorção de luz até 425 nm. Trata-se de uma característica que favorece o seu uso em processos assistidos por radiação solar, uma vez que a referida fonte de radiação apresenta menos de 4% de radiação abaixo de 387 nm (QIU *et al.*, 2008).

Até onde foi possível investigar, apenas dois trabalhos descrevem estudos de degradação de estrogênios na presença de ZnO. Han *et al.* (2012) avaliaram a degradação de E1 em presença de radiação UVA (λ = 320 a 385nm) e 0,5 g L⁻¹ de catalisador, em pH 10, observando degradação proporcionada pelo ZnO de 2 a 3 vezes superior à proporcionada pelo TiO₂.

Kontantou *et al.* (2012) avaliaram a degradação de EE2 em presença de óxido de zinco livre e imobilizado, observando uma queda de rendimento para o material imobilizado, porém, destacaram que o custo envolvido na remoção do catalisador livre

empregado em ensaios de fotocatalise é um dos principais fatores que dificulta sua aplicação do processo em maior escala

Dentro do contexto da remoção dos catalisadores após concluído o processo, especial destaque pode ser dado aos esforços realizados para o desenvolvimento de fotocatalisadores imobilizados, utilizando-se suportes como anéis de vidro (raschig rings) (YEYER *et al.*; 2000), tubos de vidro (LEE *et al.*; 2002), carvão ativado (WANG *et al.*, 2009) e sílica (PUCHER *et al.*, 2007) dentre outros materiais.

2.3.4.2 Fotocatálise heterogênea com semicondutor suportado

Em alguns casos, o uso de formas imobilizadas reduz a eficiência do processo de degradação fotocatalítica, em razão da aglomeração de partículas e da sensível diminuição da área superficial disponível para adsorção e catálise (PERALTA-ZAMORA *et al.*, 1997; MASCOLO *et al.*, 2007), da ligação com o suporte (POZZO *et al.*, 1997) e das limitações relacionadas ao transporte de massa (CHEN *et al.*, 2001). Em outros, o uso de formas imobilizadas permite significativo aumento na eficiência do processo de degradação, principalmente em função da adsorção preliminar dos substratos no material de suporte permitir a sua aproximação dos sítios catalíticos disponíveis (GAO e LIU, 2005).

Segundo dados da literatura, entre os diferentes materiais testados como suporte, o vidro é o mais utilizado para deposição de fotocatalisadores. Essa preferência é atribuída às interações originadas entre as partículas do catalisador e a superfície do vidro após tratamento térmico (CANDAL *et al.*, 2001).

Estudos voltados para o tratamento de ar atmosférico mostraram que o emprego de anéis de vidro ou fibras de vidro recobertas com fotocatalisador proporciona uma grande área superficial e permite a propagação da luz através do substrato, melhorando os resultados do processo de tratamento. Entretanto, em sistemas aquosos o efeito abrasivo da água pode ocasionar a remoção do catalisador da superfície do vidro. Além disso, o acúmulo de subprodutos gerados nos diversos processos de degradação pode ocasionar um envenenamento do catalisador (CANDAL *et al.*, 2001).

O recobrimento dos materiais usados como suporte é favorecido através de filmes em fase líquida, pois permitem um melhor controle estequiométrico dos reagentes, aliado a produção de materiais mais homogêneos (SEN *et al.*, 2005). Dentre os diferentes processos empregados destaca-se o processo sol-gel, por permitir maior homogeneidade da superfície de recobrimento, simplicidade no processo de síntese e obtenção de materiais com alta pureza (GARTNER *et al.*, 2004).

O método sol-gel emprega principalmente alcóxidos de titânio como precursores, levando à geração das partículas do fotocatalisador no próprio meio dispersante, sendo

que, em geral, o tamanho das partículas e as características dos filmes dependem das condições de síntese. Tipicamente, o processo envolve cinco etapas, sendo elas i) a hidrólise do precursor com formação de grupos OH terminais, ii) condensação por formação de ligações Metal-O-Metal com perda de água, iii) condensação cruzada com formação de polímeros ou partículas submicrométricas, iv) gelação com formação de estrutura tridimensional, v) desidratação e densificação por aquecimento (CANDAL *et al.*, 2001).

Um esquema representativo das etapas envolvendo o processo de deposição do titânio sobre a superfície do vidro é apresentado na Figura 4.

Segundo Candal *et al.* (2001) a formação de ligações Si-O-Ti e a migração de íons do material-suporte sobre o filme diminuem a atividade fotocatalítica do TiO_2 suportado sobre vidro. Além disso, cuidado deve ser tomado com a temperatura de secagem, pois temperaturas inferiores a 500 °C favorecem a formação da forma anatase, enquanto temperaturas superiores favorecem a formação da forma rutilo, fotoquimicamente menos ativa.

Alguns trabalhos relatam o uso de TiO_2 imobilizado no tratamento de estrogênios. Coleman *et al.* (2000), por exemplo, imobilizaram dióxido de titânio em uma liga metálica contendo titânio, alumínio e vanádio, estudando a degradação de estrogênios em processos assistidos por radiação de comprimento de onda superior a 300 nm. Degradações da ordem de 98% foram observadas após 3,5 horas de fotocatalise, com a fotólise correspondendo a 40% da degradação.

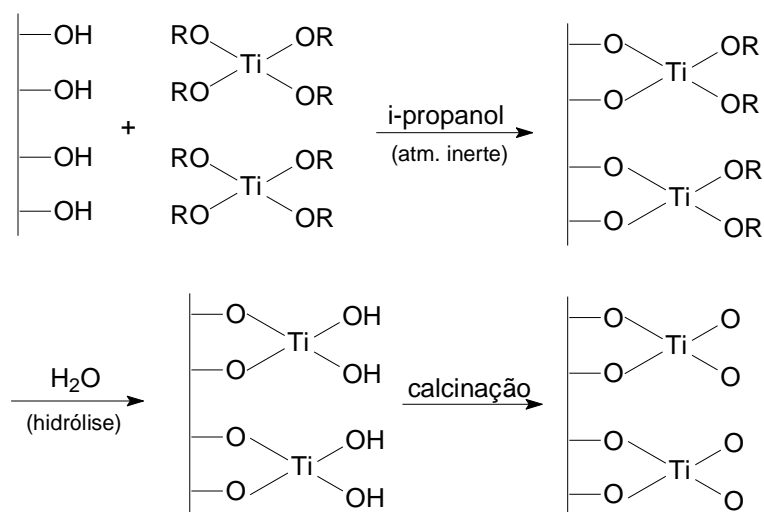


Figura 4: Esquema representativo da reação entre o vidro e os alcóxidos de titânio.

Fonte: Adaptado de Silva, 2007

Suportando o TiO_2 em “folhas” de teflon que funcionaram como pás para agitação, Nakashima *et al.* (2002) relataram redução de 98% na concentração de E2 em processos assistidos por radiação UVA. Entretanto, testes realizados na ausência de luz indicaram taxas de adsorção da ordem de 85%, após uma hora de agitação.

Tanizaki *et al.* (2002) revestiram um reator de quartzo com um filme fino de TiO_2 e testaram a degradação de estrona, 17β -estradiol e 17α -etinilestradiol sob radiação UVA. Os primeiros 30 minutos proporcionaram 90% de degradação para E1 e EE2, porém, esta mesma taxa de degradação só foi alcançada para E2 após 120 minutos de tratamento.

Através de ensaios de estrogênio recombinante baseados em bioensaios com levedura, Coleman *et al.* (2004) avaliaram a estrogenicidade de soluções contendo E1, E2 e EE2, após tratamento com TiO_2 imobilizado em uma liga de titânio e exposto a uma lâmpada de mercúrio de alta pressão de 125 W. Enquanto a estrogenicidade associada aos três hormônios foi removida após 55 minutos de fotocatalise, processos de fotólise mostraram igual resultado somente após 485 min para 17β -estradiol, 360 min para estrona e 120 min para 17α -etinilestradiol.

Coleman *et al.* (2005a) avaliaram a degradação de 17β -estradiol, estriol e 17α -etinilestradiol em um reator de quartzo em forma de mola, revestido com um filme fino de TiO_2 e também concluíram que EE2 degrada mais rápido, seguido por E2 e E3, respectivamente.

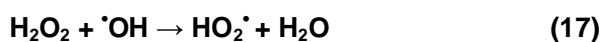
2.3.4.3 Processos Fenton

Inicialmente descrito por H. J. Fenton, em 1894, o processo Fenton é fundamentado na geração de radicais hidroxila a partir da reação entre H_2O_2 e íons ferrosos (Eq. 15) (AGUIAR *et al.*, 2007). O referido processo se destaca dentro do contexto dos processos avançados de oxidação, principalmente em função de sua elevada eficiência de degradação, simplicidade operacional (sistema homogêneo), uso de reagentes baratos, ambientalmente seguros e de fácil transporte e manuseio (ZHANG e ZHOU, 2008).

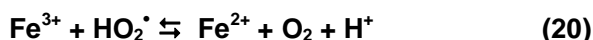
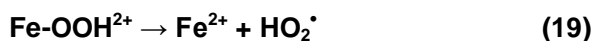
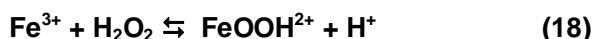


Assim como representado nas reações dos processos avançados de oxidação (Eq. 1 a 3), os radicais hidroxila reagem rapidamente e indiscriminadamente com a maioria dos compostos orgânicos (PEREIRA, 2006), sendo extensivamente usado para oxidação de muitas classes de compostos (MALATO *et al.*, 2009; MICHAEL *et al.*, 2010).

Em função da sua natureza radicalar, o processo Fenton pode envolver a ocorrência de diversas reações paralelas, as quais tornam o processo bastante complexo. Algumas reações são caracterizadas pelo sequestro de radical hidroxila (Eq. 16 e 17), podendo ser consideradas como reações de finalização que diminuem a eficiência de degradação do sistema:



Outras, por sua vez, envolvem a participação das espécies férricas originalmente formadas (sistema *like*-Fenton), com formação de oxidantes menos enérgicos, como radical hidroperoxila ($\text{HO}_2\cdot$), e regeneração de formas ferrosas (Eq. 18 a 20) (PEREIRA, 2006; AGUIAR *et al.*, 2007):



Na presença de radical hidroxila, espécies orgânicas podem gerar outras espécies radicalares, por abstração de hidrogênio (Eq. 21). Os referidos radicais orgânicos podem reagir com oxigênio formando superóxidos (Eq. 22), os quais se decompõem naturalmente até completa mineralização (PEREIRA, 2006):

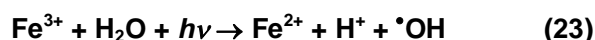


Para um bom funcionamento do processo Fenton, alguns parâmetros devem ser avaliados como pH, temperatura, natureza do substrato orgânico e concentração dos reagentes (Fe^{2+} e H_2O_2). Esses aspectos determinam a eficiência global da reação, pois suas relações podem interferir tanto na produção quanto no consumo dos radicais hidroxila. Em relação ao pH, as reações Fenton em fase homogênea apresentam melhor eficiência entre pH 2,5 e 3,0, com formação de precipitados em pH acima de 4,0, os quais apresentam baixa atividade catalítica (ZHANG e ZHOU, 2008). Em relação à concentração de íons ferrosos, estudos têm mostrado que maiores concentrações proporcionam maior eficiência do processo, entretanto devem ser observadas limitações de seu uso em relação aos valores de ferro solúvel permitidos em legislação, 15 mg L⁻¹ no Brasil (CONAMA 430 de 2011) e < 2 mg L⁻¹ na Europa (NAVALON *et al.*, 2010). Em relação à quantidade de peróxido, valores elevados podem gerar excesso de radical

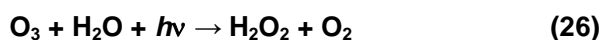
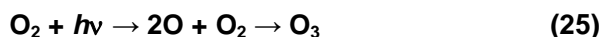
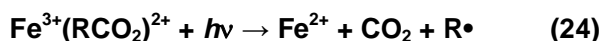
hidroxila, favorecendo o processo de recombinação radicalar (MONTEAGUDO *et al.*, 2009).

2.3.4.4 Sistema foto-Fenton

O sistema foto-Fenton consiste na combinação de H_2O_2 , íons ferrosos e radiação, usualmente ultravioleta, o que permite a fotoredução dos íons férricos gerados a partir da reação de Fenton e, conseqüentemente, a regeneração de íons ferrosos, com produção de mais um radical hidroxila (Eq. 23). Esta sequência de reações Fenton e foto-Fenton fecham um ciclo catalítico que persiste até completa decomposição do peróxido.



A geração adicional de radical hidroxila e a regeneração dos íons ferrosos aumenta a eficiência de degradação dos sistemas assistidos por radiação, além de possibilitarem a fotodegradação de complexos orgânicos que podem interromper o processo de degradação (Eq. 24) (PEREIRA, 2006). Adicionalmente, a presença de radiação pode favorecer a geração de oxidantes auxiliares, com destaque para ozônio e peróxido de hidrogênio (Eq. 25 e 26) (GROMBONI *et al.*, 2007).



Cabe ressaltar que nos processos assistidos por radiação UVC o peróxido é rapidamente consumido, o que faz com que o processo se torne desfavorável a partir dos primeiros 15 a 30 min de reação. Ainda, conforme já mencionado, o excesso de radicais hidroxila pode diminuir a eficiência do processo, em razão do seqüestro de radical hidroxila. Desta forma, os processos Fenton assistidos por radiação apresentam uma eficiência máxima quando o peróxido de hidrogênio é adicionado continuamente, sem ultrapassar o valor limite que implica em perda de eficiência (MONTEAGUDO *et al.*, 2009).

A literatura apresenta poucos estudos de degradação de hormônios empregando processos foto-Fenton homogêneos e luz artificial, com destaque para os estudos de degradação dos estrogênios E1, E2, EE2 e DES em solução aquosa, realizados por Feng *et al.* (2005a, 2005b). Nestes trabalhos são relatadas taxas de degradação de 75% a 99% em 160 minutos de tratamento, com mineralizações da ordem de 25%.

Uma importante vantagem adicional apresentada pelos processos foto-Fenton está representada pela utilização da radiação solar, uma vez que estes processos são

ativados sob luz com $\lambda < 580$ nm, sem perda da eficiência (NOGUEIRA *et al.*, 2007; MALATO *et al.*, 2009).

Nas últimas décadas o desenvolvimento de reatores fotocatalíticos solares permitiu eficiente degradação de diferentes classes de compostos orgânicos tóxicos, tornando o processo foto-Fenton ativado por luz solar bastante atrativo (KOSITZI *et al.*, 2004). Além de reduzir os custos associados ao uso de fontes artificiais de radiação, o uso de radiação solar viabiliza o desenvolvimento de sistemas de tratamento contínuo, de maior porte (TIBURTIUS, 2008).

Buscando otimizar o processo de degradação com o uso da luz solar, diversas formas de reatores foram avaliadas. Dentre as várias alternativas existentes, destaque deve ser dado aos coletores parabólicos compostos (CPC), sistemas estes que, de maneira simples e econômica, permitem o uso da radiação direta e difusa (MALATO *et al.*, 2009). Cabe salientar, entretanto, que apesar de diversos trabalhos mostrarem a eficiência dos CPC para degradação fotoassistida de diversos poluentes ambientais, não foram encontrados na literatura relatos referentes à degradação de estrogênios.

Recentemente, Frontistis *et al.* (2011) avaliaram a degradação de EE2 em amostras de esgoto, utilizando reator de bancada operado com luz solar simulada. Nestas condições, a degradação do estrogênio é praticamente completa em tratamentos de 15 min, utilizando-se processos Fenton ou foto-Fenton. Entretanto, a mineralização observada nos processos assistidos por radiação (25%) foi superior à observada nos processos Fenton (6%), após 180 min de reação. Testes de estrogenicidade empregado o ensaio YES mostraram um aumento de 40% na estrogenicidade em tratamentos de 5 min e uma redução de 25% em relação ao valor inicial após 60 min de tratamento, o que sugere a formação de espécies transientes de maior estrogenicidade do que o composto de partida.

Como comentado anteriormente, a existência de uma limitada faixa operacional de pH e a necessidade de controlar a concentração de formas solúveis de ferro, em razão das imposições da legislação específica, limitam a potencialidade dos processos Fenton. Na tentativa de contornar estas limitações, o uso de formas imobilizadas de ferro (II ou III) tem sido bastante explorado, o que, usualmente, permite aumentar a faixa operacional de pH sem a precipitação de formas férricas, o emprego de maiores quantidades de fotocatalisador e o seu reuso (SOON e HAMEED, 2011).

2.3.4.5 Sistemas foto-Fenton com ferro suportado

O uso de formas imobilizadas de ferro para a aplicação em processos Fenton e foto-Fenton tem sido grandemente estudado, objetivando aumentar a sua potencialidade de aplicação.

Segundo Zhao e Hu (2008), a quantidade de ferro presente no catalisador é um dos fatores mais importantes na fotoatividade dos catalisadores suportados. Nesse sentido, estudos reportados por Zhao (ZHAO e HU, 2008; ZHAO *et al.*, 2008, 2010a, 2010b) relatam a eficiente degradação de elevadas concentrações de 17 β -estradiol e completa remoção de sua atividade estrogênica, utilizando-se processos foto-Fenton assistidos por radiação artificial e mediados por óxidos de ferro, principalmente na forma de goethita.

Adicionalmente, em vários trabalhos têm sido estudada a degradação de compostos orgânicos persistentes por processos foto-Fenton heterogêneos, envolvendo o uso de goethita, com resultados bastante promissores (HE *et al.*, 2005; ZHAO e HU, 2008, ZHAO *et al.*, 2008; LAN *et al.*, 2010; MOLINA *et al.*, 2012).

A presença de ferro na forma de goethita se mostra interessante, em razão do referido óxido apresentar propriedades fotocatalíticas em comprimentos de onda entre 310 e 500 nm (ORTIZ DE LA PLATA *et al.*, 2008), o que sugere a aplicabilidade em processos assistidos por radiação artificial e solar.

Entretanto, assim como ocorre nos processos mediados por formas imobilizadas de TiO_2 , o uso de catalisadores heterogêneos contendo ferro permite eficiente degradação de inúmeros substratos de relevância ambiental, por meio de mecanismos de degradação ainda não completamente compreendidos.

Em função de todos os antecedentes discutidos anteriormente, a relevância de se disponibilizar tecnologia que permita a remediação de resíduos contendo estrogênios parece evidente. Por outro lado, processos avançados de oxidação têm mostrado elevada eficiência de degradação frente a inúmeros poluentes ambientais de relevância, incluindo estrogênios. Entretanto, trabalhos relacionados com a degradação de estrogênios em esgoto (bruto ou tratado) são escassos, assim como a realização de estudos direcionados a aumentar a potencialidade de aplicação dos processos em questão.

Objetivando contribuir com a consolidação dos AOP como forma de tratamento complementar de resíduos aquosos contendo estrogênios, o presente projeto se propõe a avaliar a eficiência da fotocatalise heterogênea e dos sistemas Fenton em relação à degradação de estrona (E1), 17 β -estradiol (E2) e 17 α -etinilestradiol (EE2) em solução aquosa, enfatizando o uso de fotocatalisadores imobilizados.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a potencialidade de alguns processos avançados de oxidação, fundamentados em fotocátalise heterogênea e sistemas Fenton, em relação à remediação de águas contaminadas por estrogênios.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Estabelecer e avaliar protocolos de análise que permitam a determinação dos estrogênios E1, E2, EE2 e E3 em águas contaminadas, recorrendo-se a técnicas de extração em fase sólida e cromatografia em fase líquida de alta eficiência.

Avaliar a presença de estrogênios de relevância ambiental (17β -estradiol, estriol, estrona e 17α -etinilestradiol) em efluente sanitário bruto (in natura) e tratado de estações de tratamento de esgoto.

Estudar a degradação dos poluentes selecionados, utilizando-se processos de fotocátalise heterogênea e sistemas Fenton em escala de bancada e fotocatalisadores livres e imobilizados.

Conduzir uma avaliação preliminar de um sistema de tratamento contínuo, objetivando a remediação de águas contaminadas por estrogênios.

4 PARTE EXPERIMENTAL

4.1 ESTRATÉGIA DE TRABALHO

Para satisfazer os objetivos propostos, o trabalho foi dividido em três etapas fundamentais. Na primeira, ferramentas de controle analítico foram estabelecidas, objetivando a determinação de estrogênios em concentrações da ordem de ng L^{-1} . As referidas metodologias envolveram o uso de processos de pré-concentração fundamentados em sistemas de extração em fase sólida e sistemas de detecção baseados em cromatografia em fase líquida com detecção ultravioleta e fluorescência. Na segunda etapa, todos os processos de degradação propostos foram avaliados em escala de bancada, em relação à degradação dos substratos de interesse. Os processos foram otimizados e a sua eficiência de degradação avaliada. Finalmente, e em função de todos os resultados precedentes, sistemas de maior porte, operando em regime contínuo, foram propostos, desenvolvidos e caracterizados. Uma representação esquemática da estratégia de trabalho é mostrada na Figura 5.

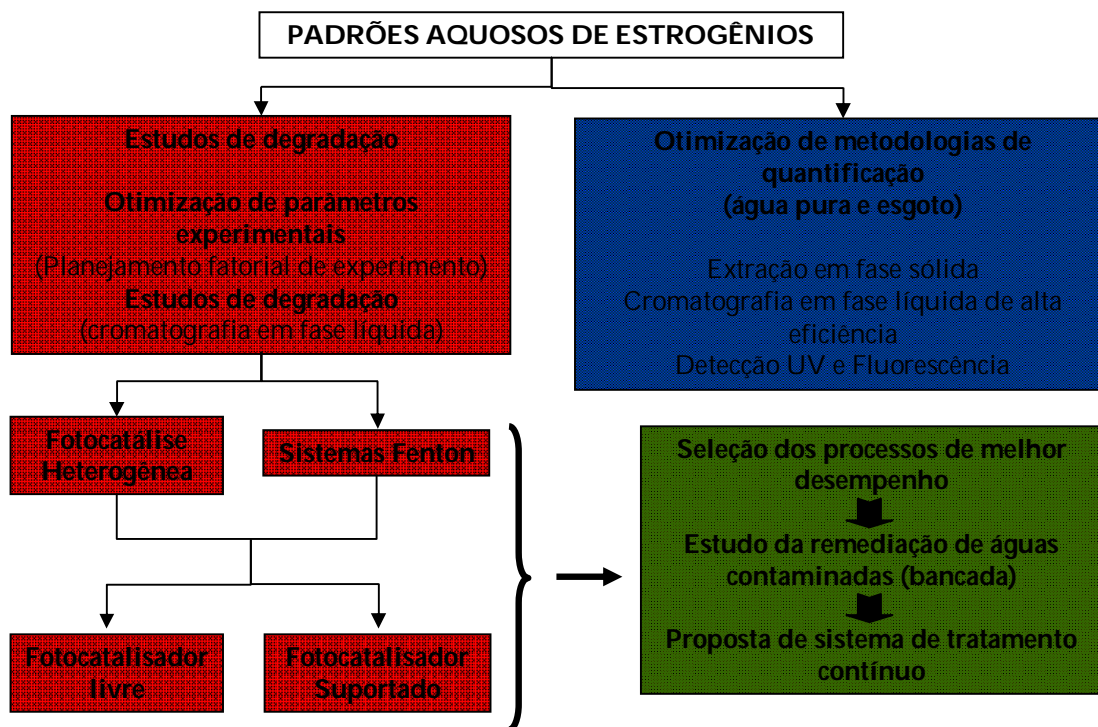


Figura 5. Representação esquemática da estratégia de trabalho adotada.

4.2 REAGENTES E MATERIAIS

Padrões de 17 β -estradiol (E2), estrona (E1), 17 α -etinilestradiol (EE2) e estriol (E3), todos com pureza mínima de 98%, foram adquiridos da Sigma-Aldrich. A partir

destes foram preparadas soluções estoque em metanol (100 mg L^{-1}) e armazenadas a -18°C . Misturas de trabalho foram preparadas por diluição em água deionizada.

No processo de fotocatalise heterogênea foram utilizados TiO_2 (Degussa P25), contendo 75% de fase anatase e 25% de rutilo e área superficial BET de $50 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$, e ZnO (Strem Chemicals) 99,7% e área superficial BET de $5 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$.

Os solventes utilizados no processo de preparo das amostras e nas determinações cromatográficas dos substratos em estudo (ex. metanol, acetonitrila) foram de grau cromatográfico de pureza (JTBaker). Outros solventes (ex. acetona) foram de grau analítico (Vetec).

A água utilizada no preparo das amostras e nas determinações cromatográficas foi de grau ultra-pura (condutividade de $18 \text{ m}\Omega$) (Millipore-Simplicity UV).

4.2.1 Amostras de efluente sanitário

Amostras de esgoto bruto e tratado foram coletadas na entrada e na saída de duas estações de tratamento de esgoto (ETEs) de Curitiba (estações A e B) e em uma ETE de Campo Largo, região metropolitana de Curitiba (estação C).

A estação A atende a uma população de aproximadamente 600.000 habitantes, utilizando reatores anaeróbios de lodo fluidizado (sistema RALF) operando com vazão nominal de 1120 L s^{-1} . O pós-tratamento é realizado por coagulação e flotação, utilizando cloreto férrico (FeCl_3). O referido processo permite a remoção de aproximadamente 80% da carga orgânica contida no esgoto.

A ETE B atende uma população de aproximadamente 214.000 habitantes, utilizando sistema RALF e vazão nominal de 420 L s^{-1} . O pós-tratamento também é realizado por coagulação seguida de flotação, utilizando polieletrólitos. O processo apresenta uma eficiência de remoção de carga orgânica de aproximadamente 80%.

A ETE C opera nas mesmas condições da ETE A, com vazão média de 42 L s^{-1} , atendendo aproximadamente 26.000 habitantes. O sistema emprega cloreto férrico como coagulante seguido de flotação por ar dissolvido (RALF+FAD). Nestas condições a remoção média de carga orgânica corresponde a 88%.

As amostras de esgoto foram coletadas em frascos âmbar de 4 L e armazenadas a 4°C até seu processamento, sempre com tempo inferior a 72 horas.

As amostras de todas as estações de esgoto foram primeiramente filtradas com auxílio de bomba de vácuo e funil de büchner, em filtro de fibra de vidro GF3 de 55 mm e $0,6 \mu\text{m}$ de poro (marca MN). Posteriormente, quando necessário, as amostras foram fortificadas com quantidades adequadas dos estrogênios em estudo e envelhecidas por 24 horas sob refrigeração a 4°C . Finalmente, alíquotas de amostra foram concentradas por SPE e levadas para determinação cromatográfica.

4.2.2 Preparo das amostras sintéticas

Aproximadamente 10 mL das soluções estoque dos padrões individuais de E1, E2, EE2 e E3, foram preparadas em metanol grau HPLC, nas concentrações de 100 ou 500 mg L⁻¹. Massas entre 1 e 5 mg foram pesadas em balança analítica de 5 casas (Sartorius cp 225 D) e o volume necessário adicionado com pipeta volumétrica, considerando-se desprezível a variação de volume da solução. Os frascos com as amostras foram revestidos com papel alumínio e armazenados em freezer a aproximadamente -18 °C.

A partir da diluição da solução estoque foram preparados em MeOH, 10 mL de misturas dos estrogênios de interesse, considerado como solução de partida para futuras determinações. A cada 3 meses novas soluções estoque foram preparadas. Soluções de concentração menor foram preparadas a partir da solução 10 mg L⁻¹. Na etapa de diluição foram utilizadas micropipetas de 200 µL, 1 mL e 5 mL (marcas Gilson e Labmate).

As soluções aquosas foram preparadas pela diluição da solução de trabalho de 10 mg L⁻¹ em água, proporcionando um volume de metanol na água igual ou menor a 0,1% (v/v).

4.2.3 Lavagem da vidraria

Antes do primeiro uso, toda a vidraria utilizada foi lavada com água da torneira e deixada em banho de ácido nítrico 10% por um período mínimo de 24 horas. Posteriormente, os materiais foram abundantemente enxaguados com água de torneira, água destilada, água deionizada e secos ao ar. Este material foi separado para uso exclusivo no trabalho com hormônios.

Após seu uso, essas vidrarias foram lavadas com álcool etílico comercial e enxaguadas 10 vezes com água da torneira, 6 vezes com água destilada, 3 vezes com água deionizada e secas ao ar.

4.3 METODOLOGIAS

4.3.1 Tratamento fotocatalítico de soluções aquosas de estrogênios com catalisadores (TiO₂ ou ZnO) em suspensão e radiação artificial

Primeiramente, os estudos foram conduzidos em um reator fotoquímico convencional de bancada (220 mL de capacidade), com 14 cm de altura e 6 cm de diâmetro interno, equipado com agitação magnética e refrigerado por água. Quando necessário, a radiação ultravioleta foi proporcionada por uma lâmpada a vapor de mercúrio de 125 W (sem o bulbo protetor original), inserida na solução por meio de um bulbo de quartzo (UV-C) ou vidro Pyrex (UV-A) (Figura 6).

O efeito de variáveis operacionais de relevância foi preliminarmente avaliado por planejamento fatorial, utilizando-se como resposta a degradação fotocatalítica da mistura de estrogênios ($20 \mu\text{g L}^{-1}$ de cada hormônio) em tempos de reação de 10 min. Baseado em informações da literatura (OHKO *et al.*, 2002; MALYGINA *et al.*, 2005; ZHANG *et al.*, 2007) o efeito das variáveis pH e massa de catalisador foi avaliado em dois níveis, o que configura um planejamento 2^2 acrescido de um ponto central ensaiado em triplicata (Tabela 6).

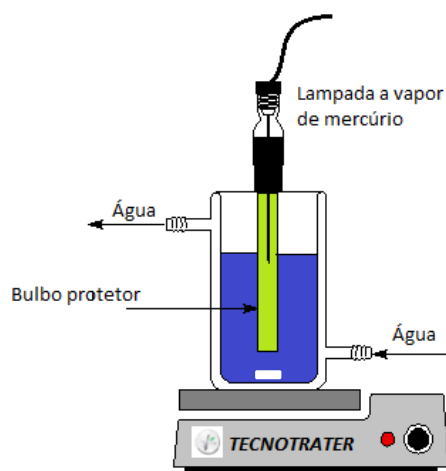


Figura 6. Representação do reator fotoquímico de bancada.

Tabela 6. Condições avaliadas na otimização do processo de fotocatalise heterogênea

Variável	Nível (-)	Ponto central	Nível (+)
pH	4	6	8
Fotocatalisador (mg L^{-1})	250	500	750

Posteriormente, estudos de degradação foram realizados por tempos de até 60 min, nas condições previamente otimizadas. A totalidade da amostra (200 mL) foi coletada após 1, 3, 5, 10, 20, 30, 45 e 60 min de reação, sendo submetida a filtração, pré-concentração por SPE e determinação cromatográfica (HPLC-DAD-Flu). Para comparação, estudos de degradação por fotólise foram realizados na presença de radiação UVA e UVC e estudos de adsorção foram realizados somente na presença do fotocatalisador.

Em função da necessidade de uma etapa de filtração para promover a remoção do fotocatalisador do meio reacional, diversos materiais filtrantes foram testados, principalmente para avaliar as perdas de analito por adsorção. Com este fim, amostras de 100 mL contendo a mistura de estrogênios em concentração de $20 \mu\text{g L}^{-1}$ foram filtradas

na presença e ausência do fotocatalisador, submetidas a pré-concentração por SPE e analisadas por HPLC-UV e HPLC-Flu.

4.3.2 Tratamento fotocatalítico de soluções aquosas de estrogênios com catalisadores (TiO_2 ou ZnO) em suspensão e radiação solar

Inicialmente, os ensaios foram desenvolvidos em um reator fotoquímico de bancada de 250 mL de capacidade, equipado com sistema de agitação magnética e coletor solar parabólico revestido de alumínio (Figura 7). Amostras contendo a mistura dos estrogênios E2 e EE2 ($50 \mu\text{g L}^{-1}$) foram tratadas por tempos de até 45 min em pH aproximadamente 7,3 e utilizando-se 250 mg L^{-1} de TiO_2 ou 750 mg L^{-1} de ZnO .

Para cada tempo monitorado (0, 15, 30 e 45 min) a amostra foi coletada, submetida à filtração e analisada por HPLC-Flu.

Os estudos foram realizados na cidade de Curitiba (latitude $25^\circ 25' \text{N}$ e longitude $49^\circ 16' \text{E}$), preferencialmente em dias claros e com a mínima presença de nuvens, usualmente entre as 11h00min e 14h00min. A intensidade de radiação UVA foi medida com um radiômetro Instrutherm (MRUR-202 UVA), registrando-se valores entre 1,2 e 2,6 mW cm^{-2} .



Figura 7. Fotografia dos reatores fotoquímicos operados com radiação solar.

Fonte: Tiburtius, 2008.

Posteriormente, estudos de degradação foram realizados em um reator do tipo cilíndrico parabólico composto (Figura 8), constituído por cinco tubos de vidro borossilicato (diâmetro interno de 2 cm e comprimento de 95 cm), colocados no centro de coletores solares construídos em alumínio de alta refletividade. Este conjunto foi disposto em uma base com ajuste de inclinação, de modo a obter o máximo de aproveitamento da radiação solar. A área do coletor é de aproximadamente $1,25 \text{ m}^2$, enquanto que o volume iluminado, quando o coletor é completamente exposto ao sol, é de 1,5 L. As amostras

podem ser passadas em modo contínuo ou em sistema de recirculação, utilizando-se bomba peristáltica.

Soluções aquosas dos estrogênios ($20 \mu\text{g L}^{-1}$, 10 L) foram passadas com vazão de aproximadamente $0,5 \text{ L min}^{-1}$, implicando em um tempo de retenção de aproximadamente 0,6 min por reator. O reator foi operado em um modo de recirculação, coletando-se amostras após um ciclo completo de 3 minutos.

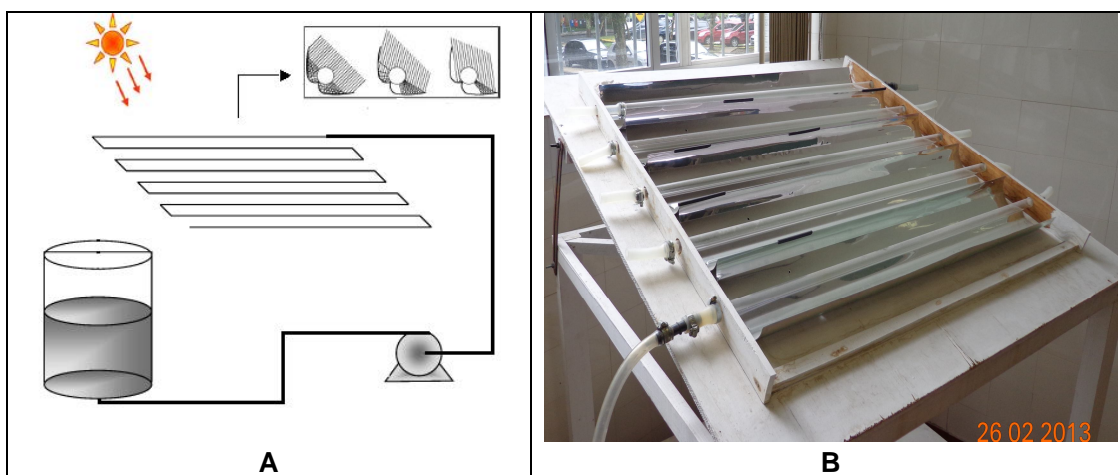


Figura 8. Esquema (A) e vista frontal (B) da unidade de tratamento operada com radiação solar.

4.3.3 Imobilização de TiO_2 e ZnO em alginato de cálcio

A imobilização de TiO_2 e ZnO em alginato de cálcio foi conduzida de acordo com procedimento descrito por Couto *et al.* (2002). Inicialmente, foi preparada uma solução de alginato de sódio em água (2% m/v), na qual foi adicionado fotocatalisador na proporção de 0,1 g de semiconductor para cada 100 mL de solução de alginato. A suspensão formada foi vigorosamente homogeneizada e as esferas de alginato produzidas por gotejamento em uma solução aquosa de cloreto de cálcio a 2% (m/v), à temperatura de 4 a 10 °C (SIRTORI *et al.*, 2012).

Estas formas imobilizadas de fotocatalisador foram caracterizadas por difração de raios-X, utilizando-se difratômetro Shimadzu XRD-6000, operando com radiação $\text{Cu-K}\alpha$ ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$), voltagem de 40 KV, corrente de 30 mA e velocidade de varredura de $0,2^\circ \text{ min}^{-1}$, com estepe de 2 segundos. As análises foram realizadas no Departamento de Química da UFPR. Além disso, as amostras foram caracterizadas por microscopia eletrônica de varredura e mapeamento químico, realizados no equipamento JEOL JSM-6360 do Centro de Microscopia Eletrônica (CME) da UFPR.

4.3.3.1 Tratamento fotocatalítico com catalisadores suportados em alginato de cálcio

Inicialmente, o efeito das variáveis de relevância (pH e massa de semicondutor) na eficiência do processo de degradação foi avaliado, utilizando-se trimetoprima (TMP) como modelo, substrato este selecionado em função da sua usual resistência frente a processos oxidativos e das facilidades encontradas no seu monitoramento espectrofotométrico ou cromatográfico.

Estudos de degradação do fármaco foram conduzidos no reator fotoquímico convencional de bancada descrito anteriormente (Figura 6). A radiação ultravioleta foi proporcionada por uma lâmpada a vapor de mercúrio de 125 W (sem o bulbo protetor), inserida na solução por meio de um bulbo de quartzo (radiação UV-C) ou vidro Pyrex (radiação UV-A). A Influência de cada variável foi estudada entre dois limites, utilizando-se um sistema de planejamento fatorial de experimentos (2^2), o qual foi fundamentado no valor percentual de trimetoprima degradada após um tratamento de 60 min.

Neste reator, amostras de 200 mL, em valores otimizados de pH, receberam a adição de quantidades otimizadas do semicondutor imobilizado (TiO_2 ou ZnO) e irradiadas por tempos de até 120 min. Alíquotas foram tomadas em intervalos de tempo pré-estabelecidos e submetidas à análise.

4.3.4 Imobilização de TiO_2 em anéis de vidro

A impregnação de TiO_2 em vidro borossilicato foi conduzida de acordo com metodologia adaptada de Yeber *et al.* (1998), utilizando-se anéis de aproximadamente 5 mm de diâmetro interno e 2 mm de espessura. Após cortados, os anéis foram lavados em detergente comum, enxaguados em abundância e secos em estufa a 80 °C. Posteriormente, os anéis foram deixados em banho de acetona, lavados com água em abundância e novamente secos em estufa. Finalmente, e para conseguir uma melhor ativação d superfície do fotocatalisador no vidro, os anéis foram mergulhados rapidamente em ácido fluorídrico 48%, enxaguados com água em abundância e secos em estufa.

Os anéis limpos e secos foram colocados em contato por 45 min com uma solução 5% (v/v) de butóxido de titânio e etanol, em atmosfera inerte de nitrogênio. Após o tempo inicial de contato os anéis foram deixados sob ar atmosférico, até completa secagem. Posteriormente, os anéis foram levados à mufla por 30 min, a temperatura de 450 °C. O procedimento foi repetido quatro vezes (SIRTORI *et al.*, 2012).

Estas formas imobilizadas de fotocatalisador foram caracterizadas por difração de raios-X, utilizando-se difratômetro Shimadzu XRD-6000, radiação $\text{Cu-K}\alpha$ ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$), voltagem de 40 KV e corrente de 30 mA. Medidas de fluorescência de raios-X de energia dispersiva foram realizadas em equipamento Shimadzu-EDX 700, enquanto que

espectros Raman foram obtidos em um equipamento Renishaw Raman Microprobe System 3000, acoplado a um microscópio ótico com resolução espacial de 1,0 μm com laser de Ar ($\lambda = 514 \text{ nm}$) com potência incidente de 50% e 10 acumulações. As imagens de microscopia eletrônica de varredura foram realizadas no equipamento JEOL JSM-6360 do Centro de Microscopia Eletrônica (CME) da UFPR.

4.3.4.1 Tratamento fotocatalítico de soluções aquosas de estrogênios com TiO_2 suportado em anéis de vidro

Os estudos de degradação foram conduzidos no mesmo reator fotoquímico convencional de bancada descrito no item 4.3.1 (Figura 6), protegendo-se a lâmpada a vapor de mercúrio com um bulbo de vidro (radiação UVA). O experimento foi realizado sob constante fornecimento de ar atmosférico, proporcionado por uma bomba comum de aquário, sem controle de vazão, borbulhado no fundo do reator.

Neste processo de fotocatalise heterogênea o espaço entre o bulbo protetor e a parede interna do reator foi preenchido por anéis de vidro contendo TiO_2 suportado, conforme ilustrado na Figura 9.

Amostras de 150 mL contendo a mistura dos estrogênios estrona, 17β -estradiol e 17α -etinilestradiol ($20 \mu\text{g L}^{-1}$), em pH 7,3, foram tratadas por tempos de até 60 min. Para cada tempo monitorado (0, 5, 10, 20, 30, 45 e 60 min) a totalidade da amostra foi coletada, pré-concentrada por SPE e a quantificação foi efetuada por HPLC-UV-Flu. Ensaio de adsorção foram realizados nas mesmas condições dos estudos cinéticos, na ausência de radiação.

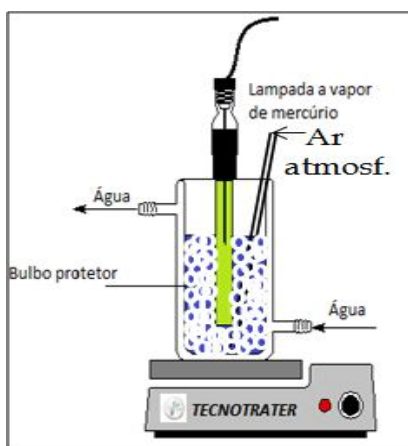


Figura 9. Representação do reator fotoquímico de bancada para tratamento fotocatalítico com TiO_2 suportado em anéis de vidro.

4.3.5 Tratamento de soluções aquosas de estrogênios por processos Fenton homogêneos sob radiação artificial

Processos Fenton foram aplicados em escala de bancada, utilizando-se reator fotoquímico de 250 mL equipado com agitação magnética e sistema de refrigeração por água. Em processos assistidos por radiação, foi utilizada uma lâmpada a vapor de mercúrio de 125 W (sem o bulbo protetor), inserida na solução por meio de um bulbo de vidro Pyrex (radiação UVA).

Com base em otimizações desenvolvidas em estudos prévios do grupo, os ensaios foram realizados em pH 3, utilizando-se 15 mg L⁻¹ de Fe²⁺ e 150 mg L⁻¹ de H₂O₂, condição considerada ótima para a degradação de substratos de diversas naturezas.

Nestas condições, estudos cinéticos foram realizados com 210 mL de amostra (20 µg L⁻¹) por tempos de até 60 min. Amostras foram coletadas em tempos específicos, pré-concentradas e submetidas à análise. Nas amostras coletadas para determinação cromatográfica a reação Fenton foi parada pela adição de NaHSO₃ (40% m/v). Além de avaliar a degradação dos contaminantes, também foram monitoradas as concentrações residuais de Fe²⁺ e H₂O₂ durante o tratamento.

4.3.6 Tratamento de soluções aquosas de estrogênios por processos Fenton homogêneos sob radiação solar

Preliminarmente os processos foto-Fenton foram testados em reatores parabólicos utilizando 15 mg L⁻¹ de Fe²⁺, 150 mg L⁻¹ de H₂O₂ e pH 3. Foram utilizadas 210 mL de soluções aquosas contendo misturas dos estrogênios E1, E2 e EE2 em concentrações de 20 µg L⁻¹. Amostras foram retiradas em 0, 15, 30, 45 e 60 minutos e levadas para determinação por HPLC-Flu.

Os estudos de degradação por processos Fenton assistidos por radiação solar foram realizados no reator contínuo descrito no item 4.3.2 (Figura 8), utilizando-se 10 L de solução aquosa contendo uma mistura dos estrogênios E1, E2 e EE2, em concentração de 20 µg L⁻¹. A vazão de alimentação foi de 0,5 L min⁻¹, o que representou um tempo de permanência de cerca de 3 min por ciclo de tratamento. Uma vez que o reator foi operado em modo batelada com recirculação, as concentrações foram determinadas após cada ciclo de tratamento.

Os ensaios foram realizados em dias claros, entre as 11h30min e 13h30min, registrando-se intensidades de radiação entre 1,2 e 2,4 mW cm⁻² para radiação UV-A (320-390 nm) e da ordem de 32,5 µW cm² para radiação UV-C (254 nm).

Além de avaliar a degradação dos contaminantes, também foram analisadas as concentrações de Fe²⁺/Fe^T e H₂O₂ durante o tratamento.

4.3.7 Imobilização de ferro em quitosana

A imobilização do ferro em quitosana foi realizada nas condições descritas por Souza *et al.* (2010). Inicialmente, 15 g de quitosana foram dissolvidos em 300 mL de solução aquosa de ácido acético 5% (v/v). A solução viscosa obtida nesta etapa foi deixada em repouso por 24 horas à temperatura ambiente, para total solubilização da quitosana. Em seguida, esta solução foi gotejada sobre 1 L de uma solução de NaOH 2,0 mol L⁻¹, com auxílio de uma bomba peristáltica. As esferas de quitosana foram posteriormente lavadas abundantemente com água destilada, até a neutralidade da água de lavagem.

A reticulação das esferas foi realizada conforme descrito por Monteiro Júnior e Airoidi (1999), deixando-se em contato, por 24 horas e a temperatura ambiente, as esferas de quitosana com solução aquosa de glutaraldeído 0,1% (v/v), sob agitação. Em seguida, as esferas foram lavadas abundantemente com água destilada para retirar o excesso do reticulante.

O processo de adsorção de ferro nas esferas reticuladas de quitosana foi realizado com um excesso de Fe²⁺ (20 g L⁻¹), deixando-se em contato 60 g de esferas e 500 mL da solução aquosas de FeSO₄.7H₂O, em pH 3. A mistura foi mantida sob agitação por 96 horas, sendo posteriormente deixada em repouso por mais 48 horas. Durante o processo de agitação/adsorção o pH foi continuamente ajustado a 3.

Finalmente, as esferas foram lavadas abundantemente com água destilada para retirar o excesso de ferro adsorvido. Esse processo foi monitorado pelo controle de ferro total e Fe²⁺.

Estudos de caracterização das esferas foram realizados por difração de raios-X e microscopia eletrônica de varredura, utilizando-se equipamentos e condições já descritas, ressonância paramagnética eletrônica, e espectrometria de emissão ótica com fonte de plasma indutivamente acoplado.

Estudos de caracterização por ressonância paramagnética eletrônica (EPR) foram realizadas no DQ/UFPR, utilizando-se espectrômetro Bruker ESP 300E, operando a uma frequência de 9,5 GHz, com frequência de modulação de 100 kHz, amplitude de modulação de 10,145 G e potência de microondas de 2 mW.

As determinações de Fe foram realizadas por espectrometria de emissão ótica com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP OES), utilizando-se equipamento Thermo Scientific, modelo iCAP 6500, do Departamento de Química da Universidade Federal do Paraná. As determinações foram feitas com configuração axial, utilizando-se comprimento de onda de emissão de 259,940 nm, com calibração externa.

4.3.7.1 Tratamento de soluções aquosas de estrogênios por processo Fenton heterogêneo sob radiação artificial

Estudos de degradação por processos Fenton e foto-Fenton foram aplicados em escala de bancada, utilizando-se o reator fotoquímico descrito no item 4.3.1 (Figura 6). Em sistemas assistidos por radiação foi utilizada uma lâmpada a vapor de mercúrio de 125 W (sem o bulbo protetor), inserida na solução por meio de um bulbo de vidro Pyrex (radiação UVA).

Preliminarmente, o efeito de variáveis operacionais de relevância foi avaliado por planejamento fatorial, utilizando-se como resposta a degradação fotocatalítica da mistura de estrogênios ($100 \mu\text{g L}^{-1}$ de cada hormônio) em tempos de reação de 10 min. Neste estudo, o efeito das variáveis pH e massa de quitosana-Fe foi avaliado em dois níveis, o que configura um planejamento 2^2 acrescido de um ponto central ensaiado em duplicata (Tabela 7).

Tabela 7. Condições avaliadas na otimização do processo foto-Fenton heterogêneo

Variável	Nível (-)	Ponto central	Nível (+)
pH	3	5	7
Massa Quit/Fe (g)	10	20	30

Posteriormente, nas condições previamente otimizadas, foram realizados estudos de degradação por tempos de até 120 min, com amostras coletadas após 0, 30, 60, 90 e 120 min. Além de avaliar a degradação dos contaminantes, também foram determinadas as concentrações de $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ e H_2O_2 durante o tratamento.

Para comparação, estudos de degradação por fotólise (somente a presença de radiação), adsorção (somente a presença de fotocatalisador) também foram realizados, nas mesmas condições antes descritas.

4.3.8 Degradação de amostras de esgoto

Estes ensaios de degradação foram realizados com amostras de esgoto tratado oriundo das ETE A (fotocatálise) e ETE B (processos Fenton), que apresentaram DQO da ordem de 100 mg L^{-1} e pH próximo a 7.

As referidas amostras foram fortificadas com E1, E2 e EE2 ($50 \mu\text{g L}^{-1}$) e, após repouso por 24 horas sob refrigeração, foram submetidas a tratamento por processos de fotocatalise heterogênea e sistemas Fenton.

O tratamento fotocatalítico foi conduzido no reator fotoquímico de bancada descrito no item 4.3.1 (Figura 6), utilizando-se TiO_2 em suspensão (250 mg L^{-1}) e imobilizado em anéis de vidro e o pH natural da amostra de esgoto (aproximadamente 7).

Em ambos os casos o tratamento consistiu de um período de 5 minutos de adsorção, seguido de tratamento fotocatalítico por 60 minutos. As amostras foram coletadas em intervalos regulares, filtradas em filtros de fibra de vidro de $0,60 \mu\text{m}$, submetidas ao processo de extração em fase sólida e analisadas por cromatografia em fase líquida com detecção por DAD-Flu.

O tratamento por processos Fenton foi conduzido em duas etapas. Na primeira, as amostras foram tratadas durante 30 min por processos Fenton, utilizando-se 15 mg L^{-1} de Fe^{2+} e 150 mg L^{-1} de H_2O_2 . Posteriormente, as amostras foram submetidas ao processo foto-Fenton, utilizando-se o reator contínuo assistido por radiação solar descrito no item 4.3.2 (Figura 8). As amostras foram coletadas em intervalos regulares, filtradas em filtro de fibra de vidro de $0,60 \mu\text{m}$, submetidas ao processo de extração em fase sólida e analisadas por cromatografia em fase líquida, DAD-Flu.

Além de avaliar a degradação dos contaminantes, também foram determinadas as concentrações de $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ e H_2O_2 durante o tratamento.

4.4 CONTROLE ANALÍTICO

4.4.1 Extração em fase sólida (SPE) de estrógenos em solução aquosa

Inicialmente, o processo de extração em fase sólida foi otimizado por meio de um planejamento fatorial completo (2^3), utilizando-se como resposta o percentual de recuperação dos estrogênios E1, E2 e EE2 em solução aquosa e em concentrações compatíveis com a natureza do estudo de fotocatalise ($10 \mu\text{g L}^{-1}$). As variáveis avaliadas no estudo foram: natureza da fase de condicionamento, volume da fase aquosa e natureza do solvente de eluição (Tabela 8), utilizando-se níveis selecionados em função de antecedentes da literatura (GIROTTO *et al.*, 2007; LOPEZ de ALDA e BARCELÓ, 2001b).

Todos os processos foram aplicados em cartuchos contendo sílica C18 (Thermo, 500mg, 3 mL), recorrendo-se a um sistema *manifold* da Waters (WAT200608) operado com bomba de vácuo (Tecnal TE-0581). As operações de condicionamento do cartucho, passagem da amostra e eluição dos analitos foram realizadas com vazão da ordem de 4 mL min^{-1} . Todos os volumes de solvente foram medidos usando micropipetas de 5 e 10 mL (marcas Labmat e Brand, respectivamente), enquanto amostras de 100 ou 500 mL da solução dos estrogênios foram medidas em balão volumétrico e transferidas para o cartucho de eluição utilizando-se bureta de vidro com torneira de teflon.

Tabela 8. Condições testadas para recuperação dos hormônios em água pura fortificada com $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de cada hormônio.

Condicionamento		Volume de amostra (mL)		Eluição	
Sistema A (-)*	Sist. B (+)**	(-)	(+)	Sist. C (-)*	Sist. D (+)**
4 mL de acetona + 5 mL de metanol + 5 mL de H ₂ O	7 mL de acetonitrila + 5 mL de metanol + 5 mL de H ₂ O	100	500	4 x 2,5 mL acetona	4 x 2,5 mL acetonitrila

*Adaptado de Girotto *et al.* (2007)*.

**Adaptado de Lopes de Alda e Barceló, (2001b).

A sequência de etapas do procedimento de extração é resumidamente apresentada no fluxograma da Figura 10.

Após definição das melhores condições de trabalho foram testados cartuchos C18 da marca Varian, para comparar as eficiências de ambos e avaliar a possibilidade do uso de cartuchos de marcas diferentes.

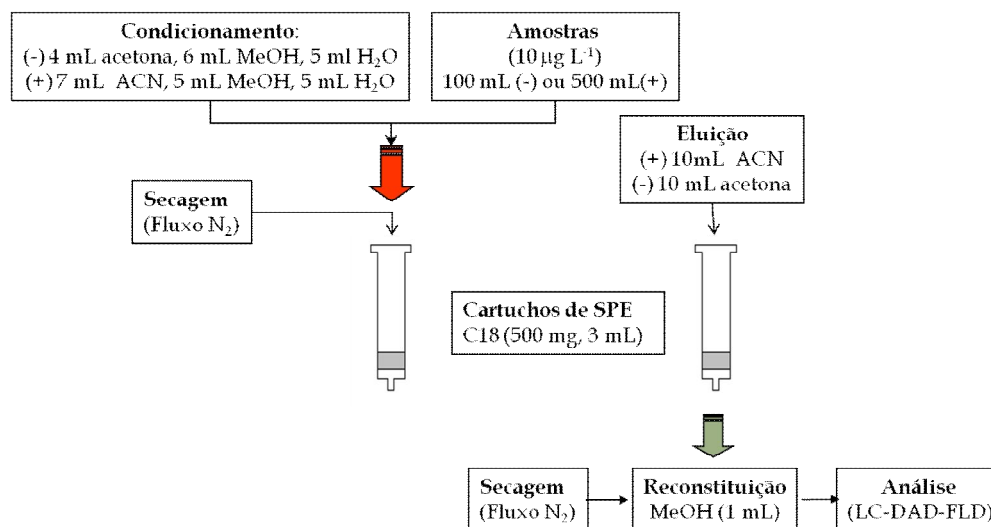


Figura 10. Representação esquemática do processo de extração em fase sólida (SPE).

4.4.2 Extração em fase sólida (SPE) de estrógenos em amostras de esgoto

Primeiramente, amostras de esgoto bruto e tratado da ETE A (4 litros cada) foram divididas em porções de 300 mL e submetidas à extração em fase sólida de acordo com o método descrito em 4.4.1 e analisadas por HPLC-DAD.

Posteriormente, amostras de um litro de esgoto bruto e tratado da ETE C foram fortificadas com os hormônios em três concentrações diferentes, 10, 50 e 75 ng L⁻¹, e submetidas ao processo de envelhecimento por 24 horas. Após esse período cada litro foi dividido em três porções de 300 mL e as amostras foram submetidas à extração em fase sólida de acordo com o método descrito em 4.4.1 e determinadas por HPLC-DAD-Flu. Os sinais obtidos das amostras fortificadas foram comparados com os sinais da análise de esgoto sem adição de padrão, e amostras de esgoto com adição de 60 µL de padrão 2,0 mg L⁻¹, colocados diretamente no vial após processo de extração e pré-concentração (Concentração aproximada de 0,6 mg L⁻¹).

4.4.3 Determinação cromatográfica de estrogênios em solução aquosa

As determinações foram realizadas em Cromatógrafo em fase líquida de alta eficiência (Varian 920 LC), equipado com detector UV (DAD) e de fluorescência (Flu, Agilent 1260). Em todas as análises foi utilizada uma coluna de sílica C18 (microsorb-MV100-5, 250 x 4,6 mm; 5 µm), pré coluna C8 da mesma marca e software GALAXIE v 1.9.

O método fundamentado em detecção UV foi estabelecido a partir de informações descritas na literatura (LOPEZ de ALDA e BARCELÓ, 2001a,b; ARAÚJO, 2006; GIROTTO *et al.*, 2007; SODRÉ *et al.*, 2007a; LOPES *et al.*, 2008). Com base nestas informações, inúmeros testes preliminares foram realizados, objetivando definir os solventes da fase móvel, a sua proporção e vazão. Por sua vez, a seleção da concentração inicial dos analitos foi definida em função do fator de pré-concentração pretendido na rotina de SPE, mas sem perder de vista a sua concentração usual em matrizes ambientais aquosas.

O método fundamentado em detecção por fluorescência foi estabelecido a partir de informações disponíveis na literatura (COLEMAN *et al.*, 2000 e 2005a; OHKO *et al.*, 2002; WEN *et al.*, 2006; LOPES *et al.*, 2010; MONTAGNER e JARDIM, 2011). Testes preliminares, objetivando definir comprimentos de onda de excitação e emissão, foram realizados para os quatro hormônios isoladamente em espectrofluorímetro HITACHI F4500.

Os parâmetros analíticos de seletividade, linearidade, faixa de aplicação, sensibilidade, limite de quantificação, limite de detecção, exatidão, precisão e robustez foram avaliados, utilizando-se misturas sintéticas em solução aquosa.

A seletividade foi avaliada em metanol puro (MeOH), mediante injeção dos padrões puros e de uma mistura dos analitos E1, E2 e EE2, na concentração de 5,00 mg L⁻¹.

A linearidade foi avaliada a partir de misturas dos analitos E1, E2 e EE2 para obtenção da curva analítica variando entre 0,10 mg L⁻¹ e 5,00 mg L⁻¹, em metanol. Esses testes foram realizados em heptuplicata.

A sensibilidade para cada um dos hormônios foi avaliada pela média do coeficiente angular para no mínimo três curvas preparadas independentemente.

A exatidão do método foi avaliada a partir de testes de recuperação em solução aquosa dos analitos de interesse em diferentes concentrações de cada estrógeno.

A precisão do método foi avaliada através do coeficiente de variação obtido para testes de recuperação realizados por extração em sextuplicata de 100 mL de solução aquosa a 20,0 µg L⁻¹ de cada estrogênio, para soluções preparadas em diferentes dias.

O limite de detecção foi avaliado pela análise de três curvas analíticas preparadas de forma independente com concentração variando entre 0,005 mg L⁻¹ e 1,000 mg L⁻¹, através do método visual e através de parâmetros da curva analítica.

O limite de quantificação foi avaliado pela análise de três curvas analíticas preparadas de forma independente com concentração variando entre 0,005 mg L⁻¹ e 1,000 mg L⁻¹, sendo considerado como limite de quantificação a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas.

Testes de robustez da análise instrumental foram realizados quanto à variação de temperatura e pressão da coluna. Em relação ao método foram testadas diferentes velocidades de vazão da amostra na passagem através de cartuchos de SPE, diferentes marcas de cartucho SPE, diferentes solventes usados no processo de reconstituição da amostra e diferentes volumes de solvente empregados no processo de eluição dos analitos.

4.4.4 Outras determinações

4.4.4.1 *Quantificação de ferro II e ferro III*

As determinações de Fe²⁺ e Fe³⁺ foram realizadas por espectroscopia UV-Vis, utilizando metodologia fundamentada na reação de complexação entre Fe²⁺ e o-fenantrolina (ISO 6232:1998). O teor de Fe²⁺ é determinado diretamente, enquanto que a concentração de Fe³⁺ é avaliada após redução com hidroquinona. Em ambos os casos, íons ferrosos reagem com o-fenantrolina formando um composto intensamente colorido, que pode ser medido por espectrofotometria na região do visível (508 nm). As concentrações foram determinadas a partir de uma curva analítica elaborada com solução de sulfato ferroso amoniacal [Fe(NH₄)₂(SO₄)₂ · 6 H₂O], na faixa de concentração compreendida entre 0,10 e 4,00 mg L⁻¹.

4.4.4.2 Determinação de peróxido de hidrogênio residual

Os níveis de peróxido de hidrogênio residual foram avaliados espectrometricamente, utilizando uma metodologia modificada a partir de procedimentos descritos na literatura (OLIVEIRA *et al.*, 2001; NOGUEIRA *et al.*; 2005). Neste procedimento, o peróxido de hidrogênio reage com vanadato de amônio, o que leva à formação do cátion peroxovanádio que absorve fortemente em 446 nm. Curvas analíticas foram elaboradas com padrão de peróxido de hidrogênio, na faixa de concentração entre 2,50 e 200,00 mg L⁻¹.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CONTROLE ANALÍTICO

5.1.1 Determinação cromatográfica de estrogênios por HPLC-DAD

As condições iniciais de trabalho foram definidas em função de dados disponíveis na literatura envolvendo a quantificação de estrogênios por HPLC-DAD, HPLC-UV ou HPLC-Flu, utilizando coluna C18 e sistemas de eluição isocrática envolvendo os solventes acetonitrila e água em proporções próximas de 1:1 (ARAÚJO, 2006; SODRÉ *et al.*, 2007a; LOPES *et al.*, 2008). Com base nesses antecedentes diferentes parâmetros foram avaliados, utilizando-se sempre uma coluna C18 (250 mm x 4,6mm, 5 μ m, Varian).

Após a realização de diversos ensaios, as variáveis cromatográficas foram definidas conforme condições apresentados na Tabela 9, enquanto que cromatogramas típicos de cada estrogênio (E1, E2 e EE2) e da sua mistura são apresentados na Figura 11. Como pode ser observado, as condições adotadas propiciaram uma boa resolução entre os picos da mistura de analitos, permitindo a sua identificação inequívoca em tempos de corrida inferiores a 15 minutos, mostrando boa seletividade do método.

Tabela 9. Condições cromatográficas otimizadas para determinação dos hormônios E1, E2 e EE2.

Eluição	Isocrática	Vazão	0,8 mL min ⁻¹
Fase móvel	ACN/H ₂ O	Volume de injeção	50 μ L
Proporção	50/50 (v/v)	Deteção DAD	197 nm

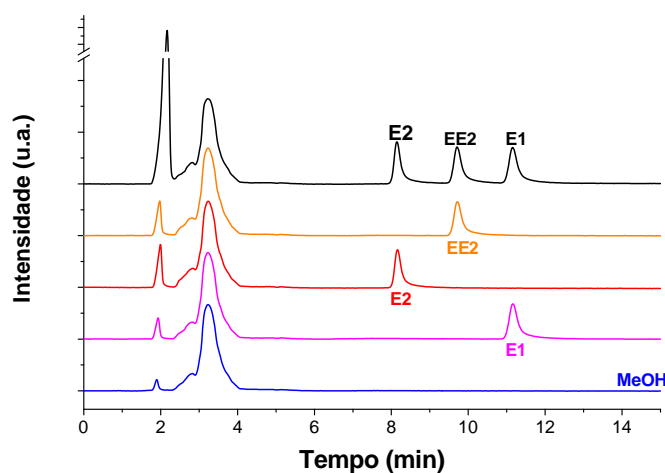


Figura 11. Cromatograma típico dos estrogênios em estudo (E1, E2 e EE2: 5,0 mg L⁻¹) e da sua mistura analisada por HPLC-DAD.

As curvas analíticas foram elaboradas em duas faixas de concentração (0,10 a 5,00 mg L⁻¹ e 0,030 a 0,500 mg L⁻¹), objetivando a definição de métodos para quantificação de estrogênios em estudos de degradação e em amostras de esgoto. Em ambos os casos as curvas apresentaram uma boa linearidade, com um coeficiente de correlação (R) superior a 0,99. Os valores médios e os respectivos desvios das sete curvas para a faixa de concentração de 0,10 a 5,00 mg L⁻¹ são apresentados nas Figuras 12a, 12b e 12c, incluindo-se a curva de regressão linear, enquanto que uma seqüência típica de cromatogramas é apresentada na Figura 12d. Para construção das curvas foi empregada detecção por DAD ($\lambda = 197$ nm).

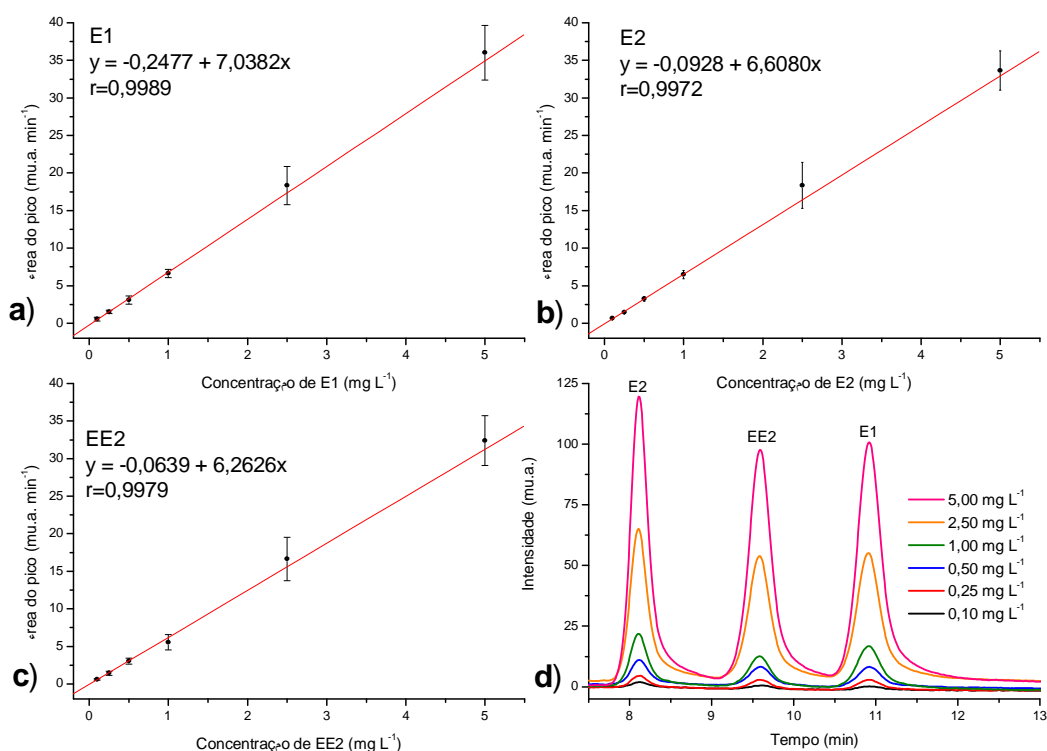


Figura 12. Curva analítica média (n=7) para E1 (a), E2 (b) e EE2 (c) e seqüência de cromatogramas das misturas de calibração (d).

A sensibilidade do método pode ser avaliada em função do coeficiente angular das respectivas curvas analíticas, parâmetros estes que são apresentados na Tabela 10. Estes resultados indicam sensibilidade similar do método cromatográfico com detecção DAD para os 3 substratos em estudo, sendo da ordem de 6 a 8 mg L⁻¹.

Segundo recomendações da ANVISA (2003), o limite de quantificação (LQ) pode ser considerado como 10 vezes a razão entre a estimativa do desvio padrão do coeficiente linear e a inclinação da curva analítica de regressão. Utilizando este critério e

os parâmetros apresentados na Tabela 10, foram obtidos limites de quantificação de 0,03 (E1), 0,06 (E2) e 0,115 mg L⁻¹ (EE2). Entretanto, comparando-se os valores de concentração nominal com os valores previstos pela regressão, foram observadas discrepâncias de até 80% em replicatas envolvendo a quantificação da concentração mais baixa (0,03 mg L⁻¹). Uma vez que o INMETRO (2003) e a IUPAC (THOMPSON *et al.*, 2002) consideram o LQ como a menor concentração que pode ser quantitativamente determinada com valores aceitáveis de precisão e exatidão, usualmente considerando-se variações máximas de 20% (US-FDA, 2001), a concentração de 0,05 mg L⁻¹ foi considerada como LQ para determinações de E1, E2 e EE2.

Tabela 10. Parâmetros da regressão da curva analítica obtida para E1, E2 e EE2 por HPLC-DAD (0,03 a 0,50 mg L⁻¹) e principais parâmetros de mérito

Parâmetro	E1	E2	EE2
Coeficiente linear (A)	- 0,05605	0,12113	- 0,02336
Variância de A	0,02220	0,04050	0,08303
Coeficiente angular (B)	7,27897	6,74922	7,19908
Coeficiente de correlação (r)	0,9999	0,9997	0,997
LQ ANVISA (mg L ⁻¹)	0,030	0,060	0,115
LQ INMETRO (mg L ⁻¹)		0,050	
LD ANVISA (mg L ⁻¹)	0,009	0,018	0,035
LD (visual) (mg L ⁻¹)		0,030	

Para determinação do limite de detecção (LD) a curva analítica foi elaborada em triplicata, na faixa de concentração compreendida entre 0,01 e 0,5 mg L⁻¹. Segundo a ANVISA (2003), o LD pode ser avaliado com base em parâmetros da curva analítica, calculado como a razão entre a estimativa do desvio padrão do coeficiente linear e a inclinação da curva de regressão multiplicada por 3. Aplicando este critério, foram obtidos os resultados apresentados na Tabela 10. Entretanto, a inspeção visual de cromatogramas obtidos para baixas concentrações de E1, E2 e EE2 (Figura 13) sugere que todos os estrogênios poderiam ser adequadamente detectados em concentrações de até 0,020 mg L⁻¹. Em função destes antecedentes, e levando em consideração a repetibilidade dos cromatogramas para baixas concentrações (método visual), o LD foi estimado em 0,03 mg L⁻¹ (30 µg L⁻¹) para os 3 estrogênios em estudo, o que está de acordo com valores encontrados na literatura.

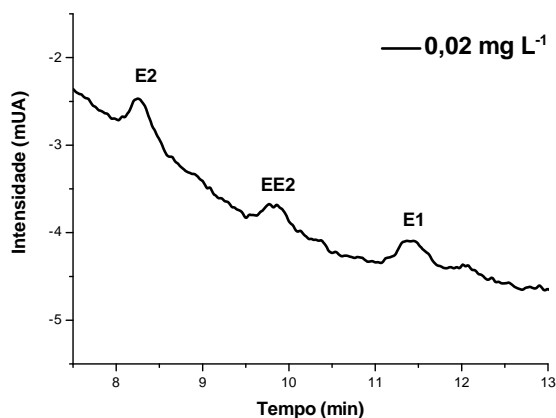


Figura 13. Cromatograma da solução padrão dos estrogênios (0,020 mg L⁻¹).

Utilizando detecção por DAD em 280 nm, Verbinnen *et al.*, (2010) encontraram LD de 1 mg L⁻¹ para E3 e 3 mg L⁻¹ para E1, E2 e EE2. Lopez de Alda e Barceló (2000), em estudos envolvendo detecção em 197 nm, obtiveram LD's de 0,05 mg L⁻¹ para E1, E2, EE2 e E3. Zheng *et al.* (2011) obtiveram LD's entre 0,006 e 0,010 mg L⁻¹ para estes mesmos hormônios, empregando detecção a 200 nm. Sodré *et al.* (2007a), utilizando HPLC-DAD, relataram limites de detecção da ordem de 0,10 mg L⁻¹ (100 µg L⁻¹) para estrona, sendo este valor calculado por meio da razão entre o desvio padrão do coeficiente linear e o coeficiente angular da reta multiplicados por 3,3.

Nossos resultados mostram-se próximos aos menores valores da literatura. Valores mais baixos quando é empregada detecção próxima a 200 nm estão de acordo com o espectro UV-VIS dos hormônios que mostram uma banda com grande absorção em comprimentos de onda próximos a 200 nm e uma banda de menor intensidade em 280 nm (Figura 14). Em função dos valores de LQ encontrados, a faixa linear de resposta do equipamento DAD, dentro das condições testadas, foi estabelecida entre 0,05 e 5,00 mg L⁻¹.

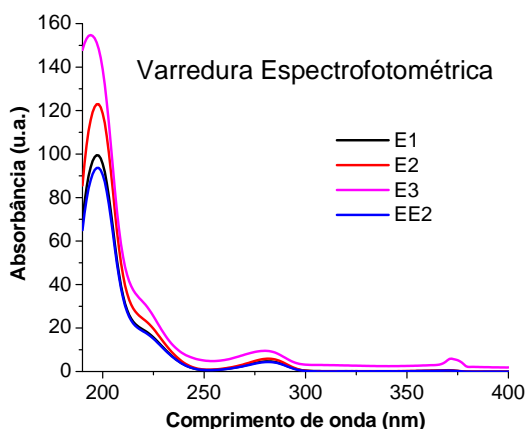


Figura 14. Espectro UV-VIS dos hormônios E1, E2, EE2 e E3.

5.1.2 Determinação cromatográfica de estrogênios por HPLC-Flu

Em função da intensa emissão de fluorescência dos estrogênios E2, EE2 e E3, métodos cromatográficos fundamentados em detecção de fluorescência (HPLC-Flu) costumam apresentar elevada detectabilidade (COLEMAN *et al.*, 2005a), o que viabiliza a determinação de concentrações traço.

Buscando caracterizar o perfil de excitação/emissão dos hormônios em estudo, ensaios preliminares foram realizados em espectrofluorímetro, utilizando-se soluções aquosas individuais de E1, E2, EE2 e E3, em concentração de 5,00 mg L⁻¹ em metanol. Os maiores valores de intensidade de fluorescência (IF) foram registrados utilizando-se excitação em 230 ou 282 nm e emissão em 306 nm (Figura15), resultados que são coerentes com antecedentes da literatura (COLEMAN *et al.*, 2000; OHKO *et al.*, 2002; NAKASHIMA *et al.*, 2002). Adicionalmente, é importante destacar que as intensidades de fluorescência registradas com excitação em 280 nm foram aproximadamente 30% superiores às registradas com excitação em 230 nm.

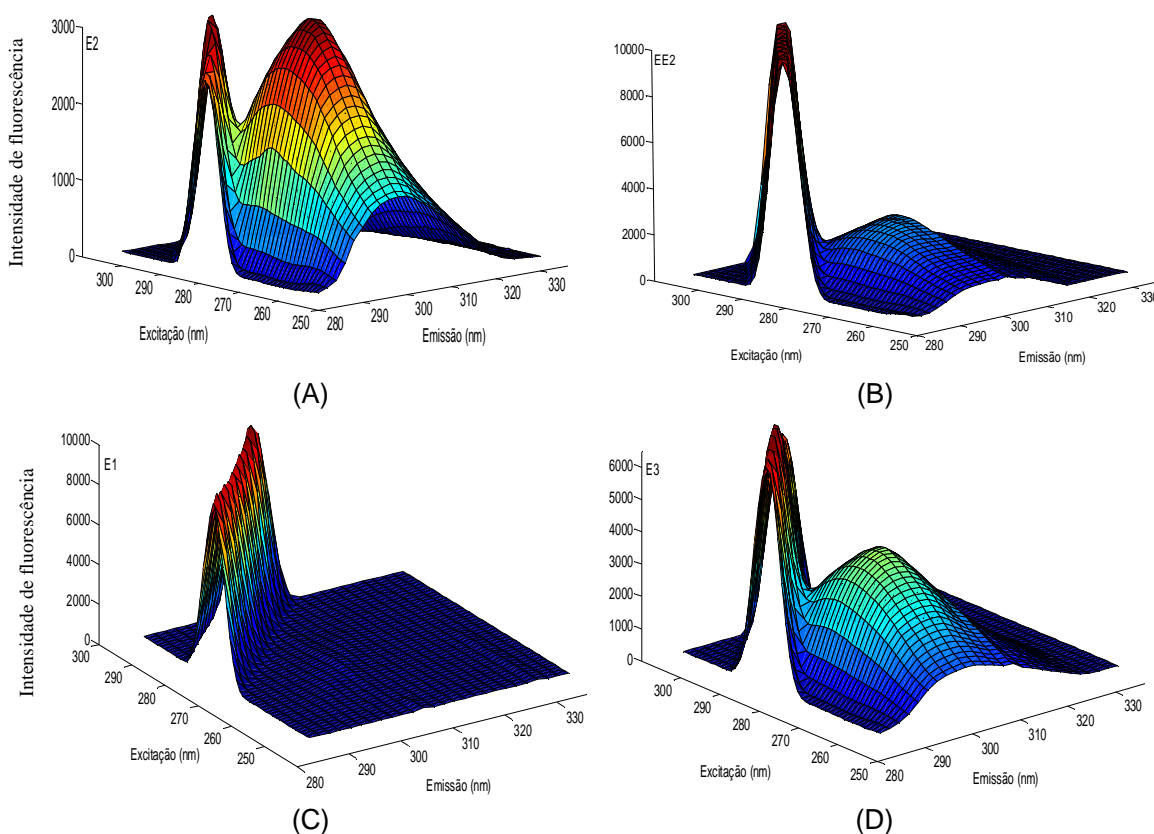


Figura 15. Espectros de fluorescência 3D dos estrogênios de interesse na região onde foram detectados picos de interesse. (A) 17-β-estradiol, (B) 17α-etinilestradiol, (C) estrona e (D) estriol.

Utilizando-se o mesmo processo de eluição adotado no método HPLC-DAD, os estrogênios E2 e EE2 foram monitorados com detecção por fluorescência, utilizando-se excitação em 282 nm e emissão em 306 nm. Nestas condições, a sensibilidade observada foi aproximadamente 10 vezes maior que a observada com o detector DAD, em razão da elevada sensibilidade do detector em questão.

Para separação cromatográfica de E3, foi utilizado um sistema de eluição por gradiente, elaborado a partir de informações da literatura (LOPEZ de ALDA E BARCELÓ, 2000). Este sistema gradiente, denominado gradiente 1, ficou estabelecido com proporção inicial de água-acetonitrila (90:10), com variação linear até água:acetonitrila (30:70) em 27 minutos. Posteriormente, a fase móvel foi modificada para acetonitrila 100% em 2 minutos, permanecendo nesta condição por 6 minutos (limpeza da coluna). Finalmente, foi restabelecida a condição inicial em 2 minutos e mantida nessas condições por 8 minutos para reequilíbrio da coluna.

Utilizando-se este sistema de eluição, foram preparadas curvas analíticas na faixa compreendida entre 0,020-0,200 mg L⁻¹ para E2, EE2 e E3. Em razão de E1 não fluorescer intensamente (ver Figura 15), a sua determinação foi fundamentada em detecção UV, em 197 nm. Nestas condições, os tempos de retenção de E3, E2 e EE2 foram de 6,25, 23,65 e 24,90 min, respectivamente, utilizando-se vazão de fase móvel de 0,8 mL min⁻¹. Também nestas condições, o tempo de retenção de E1 foi de 25,44 min. Os principais parâmetros de mérito deste método são sumarizados na Tabela 11.

Tabela 11. Parâmetros de mérito para determinação cromatográfica de estrogênios em solução padrão aquosa utilizando-se detecção DAD (E1) e de fluorescência (E2, EE2 e E3).

	Gradiente 1			
	E1 (DAD)	E2 (Flu)	EE2 (Flu)	E3 (Flu)
Equação	$Y = -0,097 + 8,91X$	$Y = -0,151 + 80,04X$	$Y = 0,235 + 76,05X$	$Y = -0,340 + 74,41X$
R	0,9990	0,9987	0,9992	0,9989
FLC (mg L ⁻¹)	0,050-0,200	0,010-0,200	0,010-0,200	0,010-0,200
N	5	9	8	9
LD (mg L ⁻¹)	0,020	0,005	0,005	0,005
LQ (mg L ⁻¹)	0,050	0,010	0,010	0,010
DPR (%)	1,94	2,53	10,24	2,81

FLC: faixa linear de calibração, LD: limite de Detecção, LQ: limite de quantificação, DPR: Desvio padrão relativo (n = 3, concentração de 0,100 mg L⁻¹)

Para o método cromatográfico com detecção por fluorescência a sensibilidade na determinação de E2, EE2 e E3 é da ordem de 80 mg L⁻¹, valor aproximadamente 10 vezes superior aos obtidos por detecção UV.

A faixa linear de calibração foi estabelecida entre 0,050 e 0,200 para E1 (DAD) e 0,010 e 0,200 mg L⁻¹ para E2, EE2 e E3 (Flu), com coeficientes de regressão (r) maiores que 0,99.

A precisão instrumental do método foi avaliada por determinação em triplicata de uma amostra contendo 0,100 mg L⁻¹ de cada estrogênio. Para detecção por fluorescência, o gradiente utilizado permitiu um desvio padrão relativo menor que 3%, com exceção da determinação de EE2, afetada por fatores indefinidos. Com o uso da detecção por DAD, o desvio padrão relativo associado à determinação de E1 se manteve abaixo de 3%, o que pode ser considerado satisfatório.

Os limites de quantificação e detecção foram estabelecidos por decréscimo sistemático da concentração dos analitos, até o limite que permitiu um desvio máximo de 20 % em determinações em triplicata. Os resultados da determinação por HPLC-Flu permitiram atingir limites de quantificação inferiores aos estabelecidos por HPLC-DAD e próximos a valores relatados por Lopes *et al.* (2010), de 0,013 mg L⁻¹ para E2, Coleman *et al.* (2000, 2005a), 0,014, 0,025 e 0,027 mg L⁻¹ para E2, EE2 e E3, respectivamente, e inferiores aos determinados por Montagner e Jardim (2011) 0,112 e 0,304 mg L⁻¹, para E2 e EE2, respectivamente.

5.1.3 Extração em fase sólida (SPE) de estrógenos em solução aquosa

Inicialmente, um planejamento fatorial completo (2³) foi utilizado para avaliar o efeito da fase de condicionamento, da fase de eluição e do volume de amostra (Tabela 12) na recuperação dos estrogênios, utilizando-se parâmetros baseados em antecedentes da literatura (GIROTTTO *et al.*, 2007; LOPEZ de ALDA e BARCELÓ, 2000 e 2001b). Os resultados, apresentados como representações geométricas na Figura 16, indicam diferenças pouco significativas nas diversas condições ensaiadas, com pequenas melhoras no rendimento de extração com o uso de acetonitrila na mistura de condicionamento e na mistura de eluição. Da mesma forma, uma leve melhora na capacidade de extração pode ser observada para volumes de amostra de 500 mL, o que é coerente com observações realizadas por Lopez de Alda e Barceló (2000), Girotto *et al.* (2007) e Verbinen *et al.* (2010), que sugerem o volume de 500 mL como limite operacional para cartuchos SPE de 500 mg.

Possíveis fatores que favorecem a acetonitrila, em relação à acetona, devem estar relacionados com a sua maior polaridade (3,92D contra 2,88D), maior constante dielétrica (37,5 contra 21,0) e com a sua maior força de eluição para fase reversa ($\epsilon^0 = 0,65$ contra

0,56), o que permite uma maior interação com os estrogênios.

Tabela 12. Condições testadas para recuperação dos hormônios em água pura fortificada com $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de cada hormônio.

Condicionamento		Volume de amostra (mL)		Eluição	
Sistema A (-)*	Sist. B (+)**	(-)	(+)	Sist. C (-)*	Sist. D. (+)**
4 mL de acetona 5 mL de metanol 5 mL de H ₂ O	7 mL de acetonitrila 5 mL de metanol 5 mL de H ₂ O	100	500	2 x 5 mL acetona	2 x 5 mL acetonitrila

*Adaptado de Girotto *et al.* (2007)*.

**Adaptado de Lopes de Alda e Barceló, (2001b).

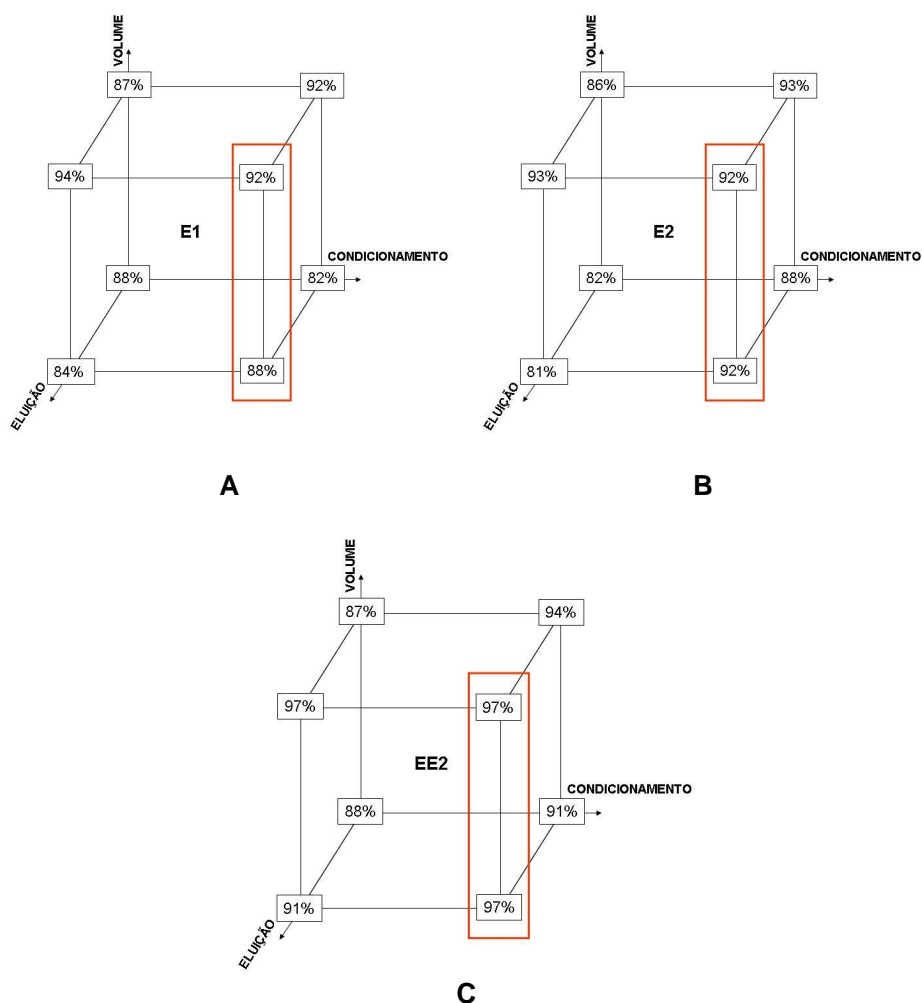


Figura 16. Representação geométrica do planejamento fatorial utilizado para otimização do sistema de extração de E1 (A), E2 (B) e EE2 (C) (concentração: $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$, $n = 3$).

Em função destas leves diferenças, as condições de extração foram definidas como: Sistema B (mistura acetonitrila/metanol/água) como solvente de condicionamento, sistema D (acetonitrila) como solvente de eluição e volume de amostra entre 100 e 500 mL, dependendo das necessidades da análise. Nestas condições, recuperações médias da ordem de 95% foram observadas para cada um dos estrogênios avaliados.

Uma vez estabelecida a melhor condição de extração, foi realizado um teste adicional para avaliar a recuperação dos estrogênios a partir de amostras de 1000 mL. Nestas condições a taxa de recuperação dos estrogênios foi nitidamente inferior, confirmando os antecedentes bibliográficos antes comentados.

Nas condições ótimas, a eficiência do processo de extração foi avaliada em relação à procedência dos cartuchos. Os resultados (Tabela 13) indicam que, mesmo se tratando de fases de idêntica natureza química (C18, 500 mg, 3mL), a extração dos hormônios é favorecida nos cartuchos da marca Thermo, provavelmente em função de diferenças em características físicas, como tamanho de partícula, área superficial, dentre outras.

Tabela 13. Testes de recuperação dos hormônios E1, E2 e EE2 em processos de extração realizados em cartuchos de diferentes procedências (Concentração: $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$, volume: 100 mL, $n = 3$)

Marca do cartucho	Recuperação (%)		
	E1	E2	EE2
Thermo C18 (500mg, 3 mL)	$98 \pm 5\%$	$98 \pm 2\%$	$97 \pm 6\%$
Varian C18 (500mg, 3 mL)	$90 \pm 3\%$	$89 \pm 2\%$	$86 \pm 20\%$

Devido às dificuldades observadas no controle da transferência da amostra para o cartucho de SPE por meio de uma bureta, principalmente devidas à inconstância na vazão, um sistema mais automatizado foi instalado, objetivando-se aumentar a frequência analítica. Esse sistema foi fundamentado no uso de *manifold* de extração, bomba de vácuo e mangueiras de condução, permitindo a passagem simultânea de 5 amostras de 100 mL, contendo os estrogênios em concentração de $20,0 \mu\text{g L}^{-1}$.

Os materiais avaliados para condução das amostras até o cartucho foram Teflon, silicone, *tygon*, polietileno e cloreto de polivinila (PVC), materiais estes que permitiram a obtenção das taxas de recuperação apresentadas na Figura 17. De acordo com estes resultados, grande parte dos materiais leva à obtenção de baixas taxas de recuperação, assim como de desvios de grande magnitude, principalmente em função de adsorção dos substratos em estudo. Aparentemente, essa preocupação pode parecer um detalhe

processual desnecessário, mas o fenômeno de adsorção dos hormônios em materiais poliméricos foi objeto de recentes publicações em revistas internacionais especializadas. Han et al. (2010 e 2012), por exemplo, demonstraram a inconveniência de grande parte das membranas utilizadas em processos de filtração, principalmente em razão da forte adsorção de estrona.

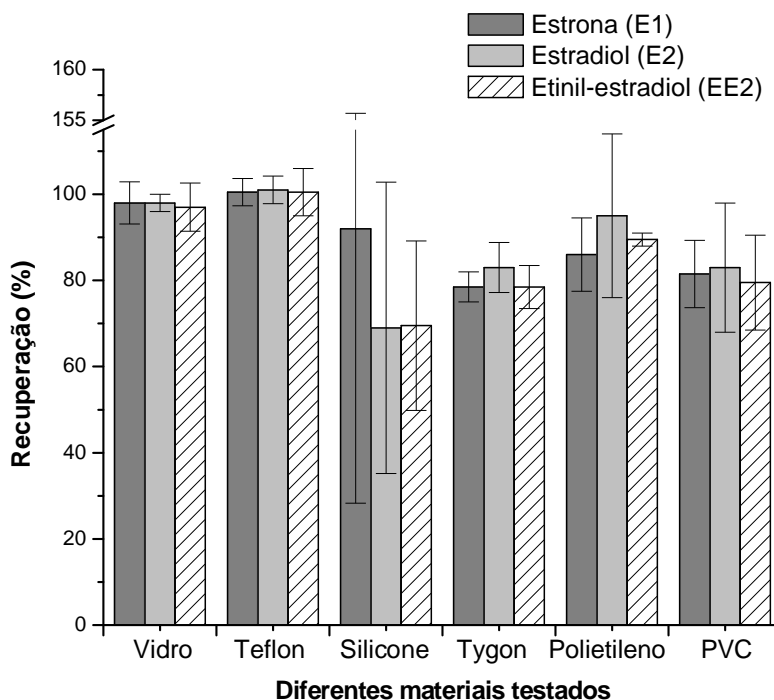


Figura 17. Recuperação dos hormônios E1, E2 e EE2 para diferentes materiais usados como condutores de soluções de hormônios. Concentração inicial dos hormônios de $20,0 \mu\text{g L}^{-1}$. (Vidro: $n = 3$; Teflon $n = 6$; Silicone: $n = 7$ (em 3 tipos diferentes); Tygon: $n = 3$; Polietileno: $n = 3$; PVC: $n = 3$).

A este respeito, alguns trabalhos alertam que os valores de K_{ow} dos estrógenos (2,6 a 4,0) indicam uma tendência de interação com substâncias apolares (JONES *et al.*, 2005), embora outras propriedades funcionais dos compostos também devam ser levadas em consideração. Em geral, estima-se que os referidos processos de sorção podem ser devidos à formação de ligações de hidrogênio, as quais são favorecidas pelo caráter próton-doador do grupo fenólico dos estrogênios (HAN *et al.*, 2010). Adicionalmente, sugere-se que os grupos fenólicos, ricos em elétrons π , podem propiciar interações do tipo π - π com grupos fenil deficientes em elétrons dos materiais poliméricos (SCHÄFER *et al.*, 2011).

Dentre os materiais testados, os únicos que poderiam ser utilizados para transferência das soluções de estrona, 17β -estradiol e 17α -etinilestradiol do frasco de amostra para o cartucho de SPE são vidro e teflon, os quais permitiram recuperações médias entre 97 e 102% de todos os estrogênios em estudo, com desvios padrão relativos da ordem de 5%. Estes resultados são coerentes com os dados de Han *et al.* (2010) que sugerem o uso de teflon, em função da baixa adsorção apresentada em relação à estrona.

Nas condições finais de trabalho, incluindo o uso de mangueiras de teflon, outros estudos de recuperação foram realizados envolvendo a modificação da vazão de passagem da amostra pelo cartucho de SPE (6,5 e 9,0 mL min⁻¹). Neste estudo foi constatada uma significativa diminuição na taxa de recuperação dos estrogênios já para a vazão de 6,5 mL min⁻¹, principalmente para E1 (59 % de recuperação) e EE2 (70 % de recuperação). Um estudo similar foi reportado por WANG *et al.* (2008), envolvendo a extração de estrona, 17β -estradiol, 17α -etinilestradiol e dietil-estil-bestrol (DES) em cartuchos C18. Neste caso, os resultados indicaram perda de eficiência somente na extração de DES, quando a vazão foi modificada de 1,8 para 4,8 mL min⁻¹.

Ainda, neste trabalho, um estudo de reuso dos cartuchos de extração foi realizado, avaliando-se a eficiência de extração dos estrogênios E1, E2 e EE2 até três processos consecutivos de extração. As taxas de recuperação observadas (Tabela 14) indicam que o uso sucessivo dos cartuchos não prejudica significativamente a eficiência do processo de recuperação, o que é coerente com os resultados de Lopez de Alda e Barceló (2001a), que sugerem possibilidades de reuso de até 6 vezes.

Tabela 14. Avaliação do reuso dos cartuchos Thermo (500 mg, 3 mL) utilizando 100 mL de solução dos hormônios E1, E2 e EE2 em concentração de 20,0 µg L⁻¹.

Uso	Recuperação %		
	E1	E2	EE2
1ª vez	93	95	94
2ª vez	84	89	86
3ª vez	87	90	88
precisão	5	3	4

A precisão e exatidão do método SPE/HPLC/UV foram avaliadas pela extração em sextuplicata de 100 mL de solução aquosa contendo 20,0 µg L⁻¹ de cada estrogênio, encontrando-se os resultados apresentados na Tabela 15.

Tabela 15. Porcentagem de recuperação média e valores de desvio padrão, em soluções de 20,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para E1, E2 e EE2, determinados por HPLC-DAD.

Estrogênio	Recuperação média (%)	Desvio padrão (s) (%)
E1	97,4	12,4
E2	99,2	11,7
EE2	98,8	10,5

A recuperação dos três estrogênios em estudo alcançou valores superiores a 97%, enquanto que o desvio padrão observado alcançou valores da ordem de 10 pontos percentuais. Embora não exista um valor máximo de consenso para os erros aleatórios obtidos em uma análise, pois isso irá variar muito com o grau de complexidade da matriz e, conseqüentemente, com o número de etapas envolvidas no processo, o GARP (1999) considera adequadas as recuperações entre 70 e 120% e os desvios padrão da ordem de 20% na determinação de micropoluentes. Lopez de Alda e Barceló (2000), por exemplo, utilizando 500 mL de solução aquosa contendo vários desreguladores endócrinos em concentração de 10 $\mu\text{g L}^{-1}$, verificaram taxas de recuperação médias de aproximadamente 97% para E1, E2 e EE2 e desvios padrão da ordem de 12%. Lopes *et al.* (2008) obtiveram níveis de recuperação entre 83% e 128% para E1 e E2, com coeficientes de variação entre 3 e 24%, trabalhando com 1000 mL de amostra e concentrações de estrogênios entre 0,6 e 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ para E1 e 7,5 e 50 ng L^{-1} para E2. Verbinen *et al.* (2010) obtiveram recuperação entre 70 e 117% (DPR = 19,4 %) para E1, E2, EE2 e E3, utilizando 400 mL de amostra e concentrações dos estrogênios entre 1,25 e 6,25 $\mu\text{g L}^{-1}$. Trabalhando com concentrações entre 2,50 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 0,50 mg L^{-1} de E1, E2 e EE2, Araújo (2006) obteve recuperações da ordem de 83 a 123%, com coeficientes de variação entre 2,2 e 13,5%, utilizando 250 mL de solução.

A robustez do método também foi avaliada estudando-se o efeito de parâmetros instrumentais, como temperatura e pressão na coluna, e processuais (substituição de acetonitrila por metanol). Enquanto mudanças de temperatura e pressão provocam deslocamento nos tempos de retenção dos substratos (diferenças de até 10%), os valores de área integrada permanecem praticamente inalterados. Por sua vez, a substituição de acetonitrila por metanol como solvente, tanto para preparo das curvas analíticas como para reconstituição das amostras, provocou uma sensível melhora na resolução dos picos (Figura 18). A influência do solvente na alteração do formato e retenção dos picos cromatográficos já foi relatada na literatura (SKOOG *et al.*, 2006; KEUNCHKARIAN *et al.*, 2006).

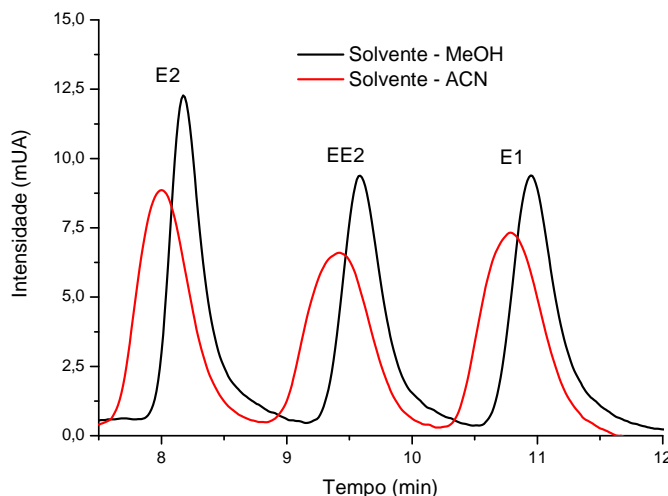


Figura 18. Cromatogramas de E1, E2 e EE2 ($0,50 \text{ mg L}^{-1}$) em MeOH e ACN.

Finalmente, em virtude das baixas concentrações dos estrogênios em amostras ambientais, avaliou-se a recuperação utilizando-se soluções padrão aquosas contendo a mistura dos estrogênios em concentrações de até $0,01 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$. Volumes de amostra entre 100 e 500 mL foram eluídos através das colunas de extração, utilizando-se volumes reconstituídos finais entre 0,1 e 1,0 mL. O controle analítico foi feito por cromatografia em fase líquida, utilizando-se eluição isocrática e detecção DAD ou em modo gradiente com detecção por fluorescência.

Os resultados (Tabela 16) mostram que para E1 o procedimento permite uma excelente recuperação para concentrações iniciais de até $0,5 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, quando usada taxas de concentração de até 200 vezes. A determinação de menores concentrações, por exemplo, $0,1 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, pode ser realizada pela aplicação de fatores de pré-concentração maiores que 500 vezes, o que implica em volumes de amostra de 500 mL e volumes de reconstituição de 1,0 mL. Sob essas condições, recuperações razoáveis podem ser observadas (aproximadamente 87%), porém, com desvios padrão relativamente altos (aproximadamente 23%), principalmente em função da proximidade entre a concentração final do analito e o limite de quantificação do método cromatográfico. A quantificação de concentrações da ordem de $0,01 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ foi praticamente impossível, mesmo com elevados fatores de concentração (2500 vezes), devido à baixa sensibilidade do detector DAD.

Para E2, EE2 e E3, o procedimento de extração permitiu uma excelente recuperação para concentrações de até $0,01 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, em razão da alta sensibilidade do detector de fluorescência e do uso de fatores de pré-concentração de 2000 a 2500 vezes.

Tabela 16. Recuperação de estrogênios de soluções aquosas por extração em fase sólida.

Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Volume amostra (mL)	Volume Final (mL)	Recuperação (%)			
			E1	E2	EE2	E3
20,00	100	1,00	97 \pm 12	99 \pm 12	99 \pm 11	-
10,00	100	1,00	98 \pm 5	98 \pm 2	97 \pm 6	-
0,50	100	1,00	87 \pm 24	93 \pm 2	91 \pm 4	ND
0,50	200	1,00	93 \pm 13	97 \pm 3	96 \pm 2	ND
0,10	100	1,00	<LQ	75 \pm 36	102 \pm 20	ND
0,10	200	1,00	<LQ	92 \pm 7	107 \pm 3	ND
0,10	500	1,00	87 \pm 23	89 \pm 9	92 \pm 2	ND
0,01	200	0,10	<LQ	87 \pm 20	79 \pm 37	ND
0,01	300	0,15	<LQ	99 \pm 1	103 \pm 3	ND
0,01	500	0,20	<LQ	98 \pm 8	104 \pm 2	88 \pm 13

LQ: limite de Quantificação (Tabela 11); ND: Não determinado. (n = 3)

Os resultados sugerem, ainda, a existência de uma correlação entre volume de amostra e a concentração do analito em relação à precisão do método de extração. Para a maior concentração testada parece ter ocorrido uma saturação no número de sítios ligantes quando 100 mL de solução foi passada através do cartucho. Assim, a precisão melhorou quando a concentração do analito caiu para 10 $\mu\text{g L}^{-1}$. Porém, boas precisões foram atingidas em concentrações menores, somente quando volumes maiores foram utilizados.

Esse comportamento da precisão do método e as recuperações observadas nas condições de trabalho são coerentes com dados da literatura. Trabalhando com níveis de fortificação de 1, 2 e 3 $\mu\text{g L}^{-1}$, Torres (2009) descreve recuperações entre 82% e 127% para E2, EE2 e E3 em amostras de água pura, com melhora da precisão e da exatidão juntamente com o aumento da concentração, mesmo fato observado por Montagner e Jardim (2011) que relatam recuperações da ordem de 50% e 109% para E1, E2 e EE2, trabalhando com água ultrapura fortificada com 1,0 e 10,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cada estrogênio.

É importante salientar que os limites de quantificação instrumental da técnica cromatográfica, junto com a aplicação de fatores de pré-concentração da ordem de 2000 vezes, permitem a obtenção de limites de quantificação da ordem de 5 ng L^{-1} para E2, EE2 e E3 e de 25 ng L^{-1} para E1, o que, em geral, é compatível com os estudos propostos.

5.1.4 Extração em fase sólida (SPE) de estrógenos em esgoto

Estudos preliminares foram realizados com amostras provenientes da ETE A, utilizando-se cromatografia com detecção UV. Fatores de pré-concentração de até 3000

vezes foram utilizados, o que corresponde ao uso de volumes de amostra de 300 mL e de volumes de reconstituição de 0,1 mL.

Os cromatogramas das amostras de esgoto bruto e tratado, juntamente com o cromatograma dos padrões puros, são apresentados na Figura 19. A partir destas informações e utilizando sistemas de calibração externa, foi possível calcular concentrações de 70 ng L^{-1} para E1, 827 ng L^{-1} para E2 e 23 ng L^{-1} para EE2 no esgoto sem tratamento e 90 ng L^{-1} para E1, 692 ng L^{-1} para E2 e 103 ng L^{-1} para EE2 no esgoto tratado. Uma maior quantidade de estrogênios na saída da estação em relação à entrada já foi relatada por outros autores, sendo, em geral, devida à degradação de estrogênios conjugados (BARONTI *et al.*, 2000; GABET *et al.*, 2007). De qualquer forma, é importante salientar que a remoção de estrogênios ou da estrogenicidade em estações de tratamento de esgoto é muito complexa, não sendo muito bem entendida (SERVOS *et al.*, 2005).

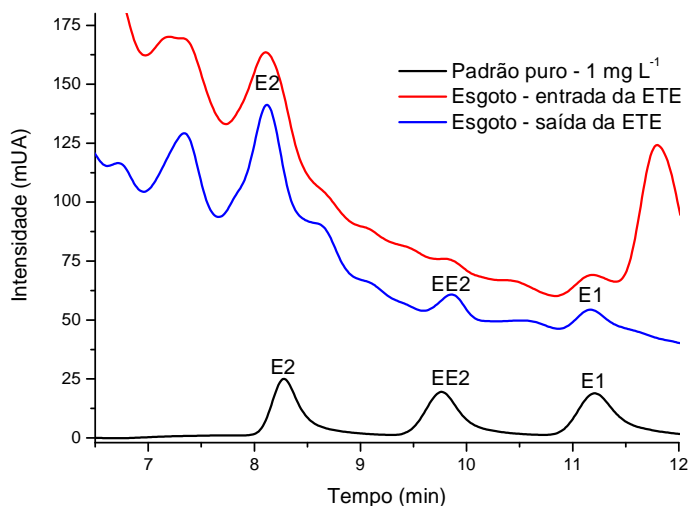


Figura 19. Cromatogramas de uma solução contendo os padrões de E1, E2 e EE2 e de amostras da entrada e saída de uma ETE com pré-concentração de 3000 vezes. Detecção por DAD ($\lambda = 197 \text{ nm}$).

Estes resultados se mostram coerentes com os valores reportados em outros trabalhos realizados no Brasil. Analisando a presença de estrogênios em águas superficiais da região de Campinas por HPLC-Flu, Sodré *et al.* (2007a), encontraram concentrações de EE2 entre 6 e 310 ng L^{-1} , enquanto que para E2 foram encontradas concentrações entre 38 e 2510 ng L^{-1} , sendo que os maiores valores foram relacionados a épocas de estiagem.

Utilizando um sistema LC-MS-MS na análise de esgoto bruto da região de Campinas, Sodré *et al.* (2010a) encontraram 1,3; 5,6 e $1,1 \text{ ng L}^{-1}$ de E1, E2 e EE2,

respectivamente, enquanto que na análise de águas superficiais encontraram 39, 7,3 e 25 ng L⁻¹ para E1, E2 e EE2, respectivamente.

Nas determinações por HPLC-DAD, não foi avaliada a presença de E3, pois a disponibilidade desse hormônio ocorreu após boa parte do trabalho de controle analítico já ter sido desenvolvida. Tentativas de sua inclusão nas condições já estabelecidas mostraram que o estriol (E3) co-elui juntamente com o solvente (metanol), apresentando uma sobreposição de picos em 197 nm. Uma alternativa testada foi a mudança do solvente para ACN (Figura 20). Entretanto, apesar de ACN permitir a separação e identificação do E3, um sinal de menor intensidade e de menor qualidade (alargamento do pico) foi verificado para todos os estrogênios, o que levou à manutenção do sistema de eluição contendo metanol.

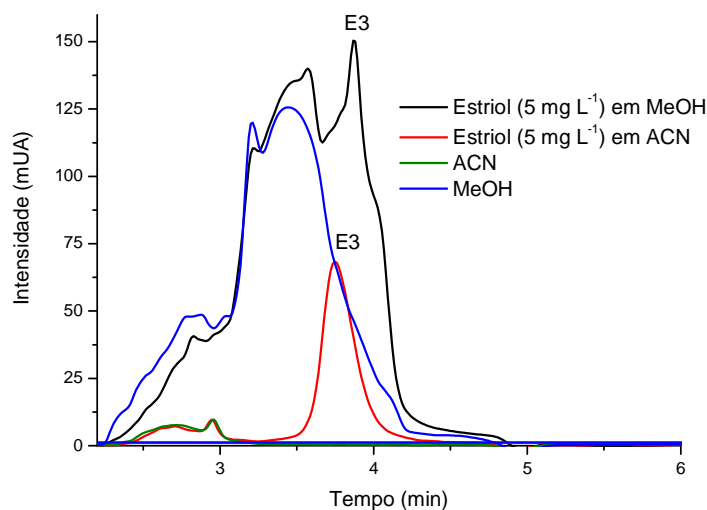


Figura 20. Cromatogramas de Estriol (E3: 5,00 mg L⁻¹) em metanol e acetonitrila e dos solventes puros MeOH e ACN.

Em análises posteriores buscou-se a inclusão do hormônio E3. Entretanto, em função de problemas operacionais nas ETE monitoradas, principalmente relacionados com o sistema de floculação/flotação utilizado como tratamento final, as amostras de esgoto apresentaram elevadas concentrações de matéria orgânica e de sólidos em suspensão, o que provocou entupimento dos cartuchos de SPE e inviabilizou a análise pretendida recorrendo-se a detecção UV.

Em função destas condições, a determinação cromatográfica dos estrogênios não foi possível, nem com o uso de eluição isocrática, nem com o uso de eluição por gradiente. Sendo assim, após diversas tentativas, um segundo sistema de gradiente foi proposto (gradiente 2), o qual permitiu uma melhor separação dos analitos de interesse.

Este novo sistema de gradiente envolveu eluição inicial com água:acetonitrila (90:10), seguida de mudança linear para água:acetonitrila (58:42) em 70 minutos. Posteriormente, mudança linear para água:acetonitrila (45:55) em 10 minutos, seguida de elevação linear da acetonitrila para 100% em 2 minutos. Essa condição foi mantida por 10 minutos e então alterada linearmente para as condições iniciais em 2 minutos e mantida assim por 11 minutos para reequilíbrio da coluna (tempo total de corrida: 105 min).

Novamente foram preparadas curvas analíticas na faixa de 0,020-0,200 mg L⁻¹ para E1, E2, EE2 e E3, sendo que E2, EE2 e E3 foram determinados por fluorescência (λ_{EX} = 282 nm e λ_{EM} = 306 nm), enquanto E1 foi determinado por detector DAD (197 nm). Nestas condições, os tempos de retenção dos compostos foram de 35,89 min (E3), 64,85 min (E2) e 70,83 min (EE2). Para E1, o tempo de retenção foi de 71,96 min.

O referido procedimento foi validado com amostras contendo os hormônios em solução aquosa, calculando-se os parâmetros apresentados na Tabela 17.

Tabela 17. Parâmetros de mérito para determinação cromatográfica de estrogênios em solução padrão aquosa pelo gradiente 2.

	Gradiente 2			
	E1 (DAD)	E2 (Flu)	EE2 (Flu)	E3 (Flu)
Equação	Y=-0,307+7,64X	Y=-0,342+74,94X	Y=-0,244+66,59X	Y=-0,313+44,94X
R	0,9856	0,9998	0,9955	0,9994
FLC (mg L ⁻¹)	0,075-0,200	0,010-0,200	0,010-0,200	0,025-0,200
N	6	10	10	9
LD (mg L ⁻¹)	0,050	0,005	0,005	0,010
LQ (mg L ⁻¹)	0,075	0,010	0,010	0,025
DPR (%) ¹	12,42	5,75	2,68	3,54

FLC: faixa linear de calibração, N: número de pontos para construção da curva, LD: limite de detecção, LQ: limite de quantificação, DPR: Desvio padrão relativo (n = 3, 0,100 mg L⁻¹)

Devido ao maior tempo de análise, o limite de quantificação para E3, composto com menor interação com a coluna, variou de 0,010 mg L⁻¹ no gradiente 1 para 0,025 mg L⁻¹ no gradiente 2, enquanto que as espécies E2 e EE2 apresentaram o mesmo limite de quantificação (0,010 mg L⁻¹). Para detecção de E1 por DAD, o limite de quantificação variou de 0,050 mg L⁻¹ para 0,075 mg L⁻¹ utilizando os sistemas de eluição gradiente 1 e 2, respectivamente.

A precisão instrumental do método foi avaliada por determinação em triplicata de uma amostra contendo 0,100 mg L⁻¹ de cada estrogênio. Para a detecção por fluorescência o sistema gradiente 2 permitiu um desvio padrão relativo menor que 6%. Com o uso da detecção por DAD, um desvio padrão relativo maior foi observado com o uso do segundo sistema gradiente, provavelmente devido à proximidade entre a

concentração do padrão e o limite de quantificação cromatográfico do método, associada ao longo tempo de análise.

Em relação ao coeficiente de correlação (r) das curvas analíticas preparadas em água ultra-pura (Tabela 17), foram observados valores superiores a 0,99 para todos os estrogênios analisados (E2, EE2 e E3) por HPLC-Flu. Com o uso de detecção UV o gradiente 2 permite a obtenção de coeficientes de correlação (próximo a 0,99) ainda dentro das especificações da ANVISA (RE 899), em relação à validação de métodos analíticos ($R > 0,99$).

Ainda assim, uma considerável interferência foi verificada no sinal de fluorescência, não permitindo a quantificação de E3 devido ao intenso sinal de fluorescência da matriz. Devido a problemas de interferência também não foi possível realizar a determinação de E1 por DAD para amostras da estação C.

Um cromatograma típico de uma amostra de esgoto pré-concentrada da ETE C, obtido pelo gradiente 2, é mostrado na Figura 21. O cromatograma sugere a presença de E2 e a ausência de EE2 mesmo em amostras submetidas a altos níveis de pré-concentração.

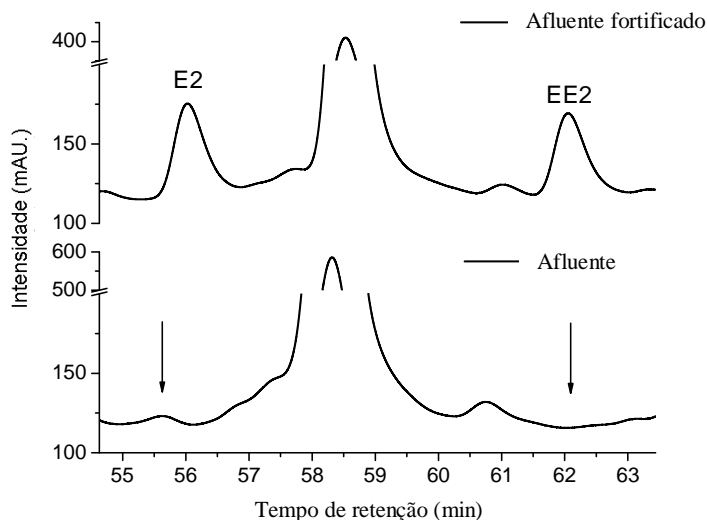


Figura 21. Detalhes de um típico cromatograma de amostra de esgoto natural e fortificado da ETE C.

Devido às dificuldades de quantificação dos hormônios em amostras de esgoto utilizando $\lambda_{EX} = 282\text{nm}$ e $\lambda_{EM} = 306\text{ nm}$, e, em função de antecedentes da literatura sugerirem o uso de excitação em 230 nm (SNYDER *et al.*, 1999; COLEMAN *et al.*, 2005a; WEN *et al.*, 2006; SODRÉ *et al.*, 2007a; LOPES *et al.*, 2008, 2010; MONTAGNER e JARDIM, 2011), estudos comparativos, foram realizados com os dois comprimentos de excitação empregando amostra real de esgoto proveniente da ETE C. Estes

cromatogramas são mostrados na Figura 22.

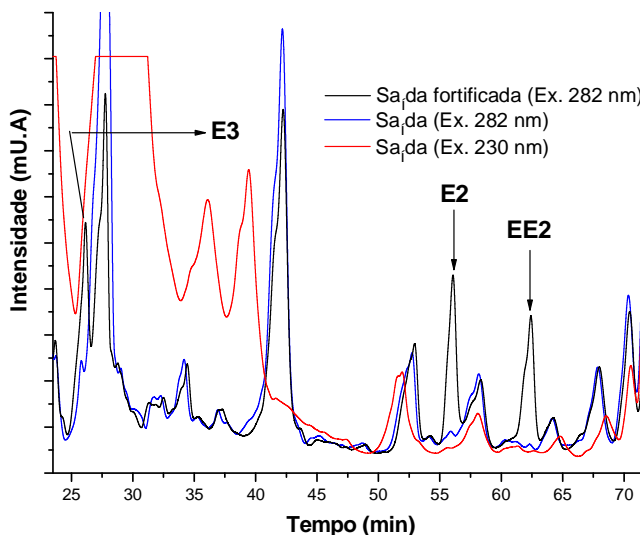


Figura 22. Cromatogramas de amostras de esgoto com detecção por fluorescência aplicando o gradiente 2.

Os perfis cromatográficos apresentados na Figura 22 permitem verificar que o uso de 230 nm como comprimento de onda de excitação provoca intensos sinais de emissão por parte de substâncias que não foram removidas no processo de extração, o que inviabiliza a determinação do estrogênio E3 que sofre forte interferência pelo sinal da matriz. Além disso, é possível observar sinais mais intensos para E2 e EE2 com excitação a 282 nm do que em 232 nm. Em função destas observações, o comprimento de excitação de 282 nm foi mantido em todos os estudos subsequentes.

Nos estudos de recuperação, as amostras de esgoto foram fortificadas em quatro níveis de concentração (10, 50, 75 e 300 ng L⁻¹), após o qual foram submetidas a envelhecimento por 24 horas. Após aplicação do processo de extração em fase sólida, as amostras foram avaliadas por cromatografia, verificando-se a impossibilidade de integrar os sinais referentes à E1 e E3, em função do forte sinal da matriz tanto na detecção UV como de fluorescência. Por sua vez, o sinal de EE2 não foi detectado nas condições de trabalho.

Na Tabela 18 são apresentados os resultados do ensaio de recuperação do estrogênio E2 a partir de amostras fortificadas, assim como a concentração calculada por interpolação em curva analítica externa e pelo sistema de adição de padrão. É importante salientar que os resultados obtidos pelas duas formas de calibração apresentaram a mesma ordem de magnitude, sendo, também, comparáveis com resultados reportados em trabalhos de natureza similar, incluindo trabalhos recentes envolvendo detecção por

espectrometria de massas (PAILLER *et al.*, 2009; HOSOGIA *et al.*, 2010; SODRÉ *et al.*, 2010a, 2010b).

Em princípio, os percentuais de recuperação observados (entre 40% e 70%) podem ser considerados inadequados. Entretanto, poucos trabalhos relatam a realização de ensaios de recuperação a partir de matrizes complexas empregando baixas quantidades de fortificação do analito de interesse, praticamente ignorando o efeito de matriz. Adicionalmente, não existe consenso a respeito deste efeito, o que faz com que alguns trabalhos descrevam um efeito de matriz que leva a recuperações entre 10 e 20%, enquanto que outros admitem a inexistência deste efeito, relatando taxas de recuperação entre 80 e 100 % (GABET *et al.*, 2007). Essa variação pode estar associada à diferente constituição da matriz da amostra, ao método empregado para preparo da amostra e à seletividade da técnica instrumental empregada.

Tabela 18. Recuperação de E2 a partir de amostras de esgoto (afluente e efluente)

Amostra (n=3)	Conc. Encontrada (ng L⁻¹)	RSD (%)	Recuperação (%)	RSD (%)
Afluente¹	6,0	3,7	-	-
10 ng L ⁻¹	7,2	0,4	71,7	4,1
50 ng L ⁻¹	33,1	1,8	66,1	3,7
75 ng L ⁻¹	47,9	8,6	63,8	11,5
300 ng L ⁻¹	203	-	67,6	-
Afluente²	3,4	-	-	-
Efluente¹	3,0	1,6	-	-
10 ng L ⁻¹	4,1	1,3	40,8	13,1
50 ng L ⁻¹	30,1	4,6	60,2	9,1
75 ng L ⁻¹	50,2	1,2	67,0	16,5
300 ng L ⁻¹	139,5	-	46,5	-
Efluente²	0,6	-	-	-

1: interpolação direta, 2: sistema de adição de padrão

É importante salientar que a presença de materiais coloidais impediu o uso de 500 mL de amostra no processo de extração, principalmente em função do entupimento dos poros do material sorvente e da consequente redução na vazão de passagem das amostras. Embora observações deste tipo não sejam comumente encontradas na literatura, Mocé-Llivina *et al.*, (2003) comentam que este tipo de efeito é particularmente importante na filtração de amostras complexas, como águas naturais e esgoto, onde a presença de matéria orgânica ou outras substâncias coloidais acrescenta problemas operacionais adicionais. De acordo com este relato, o entupimento dos poros da fase de membrana (*clogging*) e a formação de depósitos que praticamente agem como uma segunda membrana (*fouling*) limita o volume de amostra, aumenta o tempo de filtração e diminui a capacidade de recuperação de certos micropoluentes (BAKER e KASPRZYK-HORDERN, 2011).

Estudos recentes demonstram que o fenômeno de *fouling* associado à presença de ácidos húmicos e polissacarídeos aumenta significativamente a retenção de estradiol em processos de ultrafiltração (JERMANN *et al.*, 2009). Trata-se de um antecedente relevante, não apenas em razão do significativo aumento no tempo de análise, mas especialmente em razão de perdas associadas ao analito de interesse.

Pailler *et al.* (2009) utilizaram um sistema de dupla filtração na análise de águas naturais, envolvendo o uso de membrana de fibra de vidro de 3,0 μm para remoção do material suspenso, e, posteriormente, membrana de 0,45 μm . Neste caso, o efeito da matriz para a recuperação de estrogênios (E1, E2 e EE2, 50 ng L^{-1}) a partir de amostras de águas naturais atingiu valores máximos de 20%. Interferência por efeito matriz da ordem de 15% também foi relatada por Wang *et al.* (2008), em estudos envolvendo águas naturais (rio, lago e poço) filtradas em fibra de vidro de 4,5 μm e fortificadas com 3 a 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ de E1, E2 e E3.

Análises recentes realizadas com amostras provenientes da ETE B, a qual apresentou menor quantidade de material em suspensão em relação à ETE C, ainda estão sendo processadas, entretanto é possível afirmar que novamente não foi possível determinar o hormônio E3 devido a problemas de interferência. Em relação ao hormônio E2, este não foi encontrado nas amostras analisadas. Os dados para EE2 e E1 ainda estão sendo interpretados.

Detalhes de um cromatograma de uma amostra de esgoto pré-concentrada da ETE B, obtido pelo gradiente 2, com diferentes níveis de fortificação de E2 (50, 100 e 300 ng L^{-1}) é mostrado na Figura 23. O cromatograma sugere a ausência de E2.

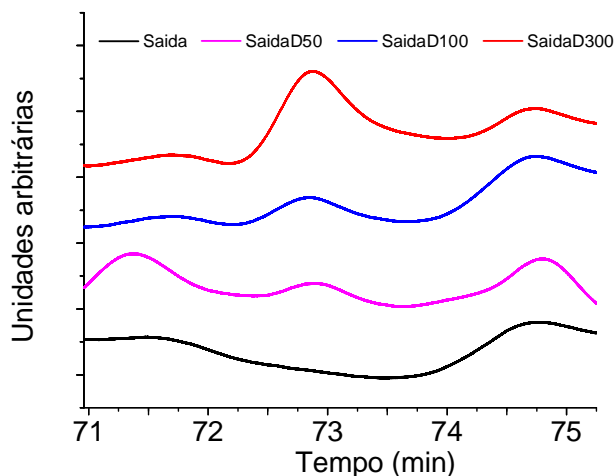


Figura 23. Detalhes de um cromatograma de uma amostra de esgoto natural da ETE B com fortificação com 50, 100 e 300 ng L^{-1} do hormônio E2.

5.1.5 Comentários sobre o estabelecimento de ferramentas de análise para estrogênios em solução aquosa.

Os resultados discutidos anteriormente demonstram que a rotina de extração em fase sólida permite fatores de pré-concentração que viabilizam a determinação de estrogênios por cromatografia em fase líquida de alta eficiência, alcançando limites de quantificação compatíveis com a natureza deste estudo.

Na análise de amostras de esgoto, entretanto, o efeito de matriz se manifestou de forma intensa, em função da presença de substâncias não removidas na etapa de pré-concentração por SPE, as quais absorvem e fluorescem também intensamente.

A interferência provocada por este efeito de matriz permitiu, apenas, a determinação de E2, para o qual foram encontradas concentrações compatíveis com os inúmeros relatos da literatura recente.

5.2 TRATAMENTO FOTOCATALÍTICO COM CATALISADOR EM SUSPENSÃO

5.2.1 Estudos preliminares

Depois de estabelecidas as condições cromatográficas e determinados os principais parâmetros de mérito do método analítico, foram iniciados os estudos de degradação fotocatalítica com TiO_2 em suspensão.

Na presença do semicondutor, o processo de extração em fase sólida (SPE) se mostrou extremamente demorado, estendendo o tempo de extração de 30 a 150 min, o que inviabilizou algumas determinações por entupimento dos cartuchos. Desta forma, uma etapa de filtração preliminar se mostrou necessária. Entretanto, parte dos estrogênios pode ser perdida por adsorção na membrana, o que faz com que a seleção do material filtrante seja de extrema relevância.

Doll e Frimmel (2004), por exemplo, relataram eficiente remoção do TiO_2 em membranas de fluoreto de polivinilideno (PVDF), com tamanho de poro de 0,1 μm . Malygina *et al.* (2005), por sua vez, relataram importante perda de 17β -estradiol na filtração em membrana, o que obrigou a uma etapa de centrifugação (10.000 rpm), mesma alternativa utilizada anteriormente por Ohko *et al.* (2002) e adotada por Mai *et al.* (2008) e Sun *et al.* (2010). Além disso, Benotti *et al.* (2009), trabalhando em escala piloto, utilizaram uma membrana cerâmica de microfiltração (0,10 μm). Recentemente, Li Puma *et al.* (2010) relataram o uso de membranas de nylon de 0,45 μm para a remoção do TiO_2 em trabalhos envolvendo fotocatalise de E1, E2, EE2 e E3. Entretanto, Han *et al.* (2010) sugeriram o uso de filtros de fibra de vidro de 0,45 μm ou membranas de politetrafluoretileno (PTFE), devido à forte adsorção apresentada pela estrona nos demais materiais testados.

Neste trabalho, processos de centrifugação (3500 rpm por 20 minutos) isolados e seguidos de filtração foram avaliados, utilizando-se filtro de fibra de vidro (0,45 μm) em funil de placa sinterizada nº 4, ou filtro de fibra de vidro (0,45 μm e 0,60 μm), membrana de éster de celulose (0,45 μm), papel de filtro faixas preta, vermelha, azul e branca, todas suportadas em funil de Buchner. Ensaios de recuperação utilizando estes processos de separação foram realizados, obtendo-se os resultados apresentados na Figura 24. Para comparação, a recuperação observada na ausência de semiconductor (condição 7) foi também avaliada.

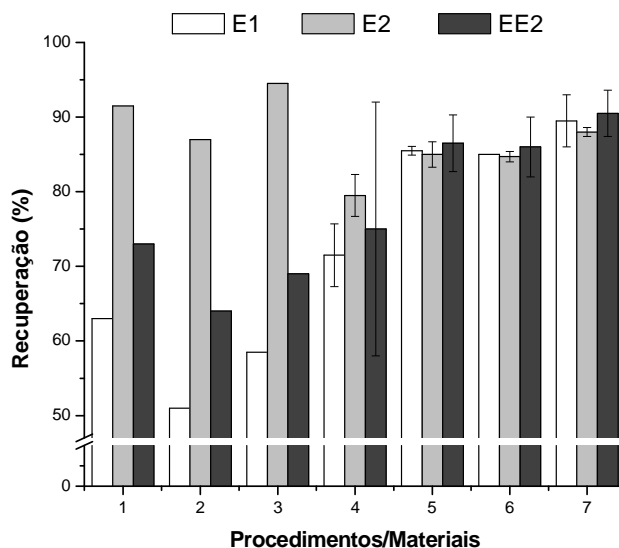


Figura 24. Recuperação de estrogênios (300 mL, 20,0 $\mu\text{g L}^{-1}$) a partir de suspensões com TiO_2 (750 mg L^{-1}) em processos de filtração utilizando os materiais filtrantes indicados (Condições 1 a 7 descritas no texto).

Na condição 1, uma solução com catalisador em suspensão foi passada diretamente pelo cartucho de SPE, sem qualquer outra etapa adicional, consumindo aproximadamente 120 minutos para filtração. Além da dificuldade no processo de filtração, percebeu-se que a recuperação dos estrogênios foi fortemente prejudicada. Em 2, a solução foi primeiramente filtrada em papel faixa azul que permitiu a retirada parcial do catalisador, deixando a solução ainda turva. Na sequência, a solução foi filtrada em membrana de poliéster de 0,45 μm , obtendo-se resultados de pior qualidade. No processo 3, a solução foi centrifugada a 3500 rpm por 20 minutos, mas permaneceu turva, sendo posteriormente filtrada com membrana de fibra de vidro (GFC-52) de 0,45 μm . O processo mostrou-se extremamente trabalhoso e apresentou resultados semelhantes à situação 1. Para o teste 4, a filtração foi realizada diretamente em

membrana de poliéster de celulose de 0,45 μm . Além dos baixos resultados de recuperação, o processo de filtração demorou aproximadamente 60 minutos. Nas situações 5 e 6, a filtração foi realizada em filtro de fibra de vidro GFC-52 (0,45 μm) e GF3 (0,60 μm), respectivamente, observando-se os melhores resultados de recuperação (comparar com condição 7). O uso da fibra GF3 (0,60 μm) permitiu a filtração a pressões moderadas e em tempos totais bastante inferiores.

Estes resultados demonstram a relevância, não apenas do material de filtração, mas também do suporte utilizado. De maneira geral, o uso de vidro sinterizado se mostrou inconveniente para o suporte de membranas de éster de celulose e fibra de vidro, enquanto que o funil de Buchner, feito de porcelana, permitiu recuperações próximas à do sistema controle, para ambas as membranas. Por sua vez, o uso de papel quantitativo denso (faixa azul) apresentou os piores resultados de recuperação, principalmente para estrona, o que pode ser atribuído à existência de interação por pontes de hidrogênio entre os estrogênios e a celulose (JONES *et al.*, 2005).

Existem ainda relatos da literatura que indicam adsorção de estrona da ordem de 20% em filtros de acetato de celulose e da ordem de 2% em filtros de fibra de vidro (HAN *et al.*, 2010). Outros trabalhos demonstram perdas de até 50% no teor nominal de 17 β -estradiol (50 a 150 ng L⁻¹), em processos de filtração envolvendo membranas de acetato de celulose (NEALE *et al.*, 2009a, 2009b), corroborando nossos melhores resultados com o uso de filtros de fibra de vidro.

Em função destes resultados, o processo adotado para a remoção de fotocatalisadores em suspensão foi a filtração em membrana de fibra de vidro de 0,60 μm (GF-3, marca MN).

5.2.2 Degradação fotocatalítica de estrogênios na presença de TiO₂ e luz artificial

Inicialmente, o efeito das variáveis pH e massa de TiO₂ na eficiência de degradação do processo fotocatalítico foi avaliado por planejamento fatorial 2², utilizando-se 220 mL de amostra contendo 20 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cada estrogênio e radiação UVA e UVC. O efeito do pH foi estudado entre 4 e 8 e o efeito da concentração do semicondutor entre 250 e 750 mg L⁻¹, incluindo-se um ponto central (pH 6 e massa de semicondutor de 500 mg L⁻¹) realizado em triplicata.

Avaliando-se a concentração residual dos estrogênios por SPE/HPLC/UV (fator de pré-concentração de 100 vezes) foi calculado o percentual de degradação após tratamento de 10 min, obtendo-se os resultados apresentados na Tabela 19.

Tabela 19. Planejamento fatorial utilizado para avaliar o efeito do pH e massa de TiO_2 na remoção de E1, E2 e EE2 (estrogênios $20,0 \mu\text{g L}^{-1}$, 220 mL; tempo de reação: 10 min).

Ensaio	Variáveis		Remoção (%)		
	pH	Massa de TiO_2	E1	E2	EE2
			UVA / UVC	UVA / UVC	UVA / UVC
1	-	-	7 / 97	26 / 63	11 / 59
2	+	-	80 / 100	82 / 99	82 / 100
3	-	+	26 / 64	38 / 44	24 / 38
4	+	+	82 / 100	84 / 97	84 / 95
5/6/7	0	0 (UV-A)	20 ± 5	42 ± 6	29 ± 7
5/6/7	0	0 (UV-C)	92 ± 1	78 ± 1	77 ± 1

Variável	Efeitos		
	E1	E2	EE2
	UVA / UVC	UVA / UVC	UVA / UVC
pH	64 / 19	51 / 44	67 / 49
Massa de TiO_2	10 / -17	7 / -11	8 / -12
pH x Massa	- 8 / 16	- 5 / 8	- 5 / 8

Para a radiação UVC, os efeitos calculados com base no planejamento (Tabela 19) indicam um efeito positivo do aumento do pH e um efeito negativo com o aumento da massa de fotocatalisador, o que sugere a máxima eficiência de degradação nas condições do experimento 2 [massa: (-) e pH: (+)]. Entretanto, um importante efeito de segunda ordem pode ser observado na degradação dos 3 estrogênios, o que implica em um efeito não equivalente do pH para ambos níveis de massa, e *vice-versa*. Este efeito de segunda ordem pode ser mais facilmente observado na representação geométrica do planejamento realizado para o hormônio E1, (Figura 25a), que mostra diferença pouco significativa na capacidade de degradação do sistema quando se utilizam massas de fotocatalisador equivalentes a 250 ou 750 mg L^{-1} e elevados valores de pH, e um forte efeito negativo (-33) quando a mudança de massa é realizada em baixos valores de pH. Este efeito de segunda ordem faz com que as melhores condições de degradação sejam observadas em valores de pH próximos de 8, independentemente da massa de fotocatalisador (experimentos 2 e 4).

Em função de uma menor massa de catalisador ter proporcionado uma maior eficiência de degradação dos sistemas assistidos por luz UVC, novos experimentos foram realizados diminuindo-se a massa de fotocatalisador (125 mg L^{-1}) e ampliando a faixa de pH (6, 7 e 8). Os resultados (Figura 25a) demonstram remoção praticamente completa de todos os estrogênios nos 10 min de reação praticados, o que sugere uma participação menos importante das reações mediadas pelo fotocatalisador e, por consequência, uma significativa contribuição do processo de fotólise.

Em relação à radiação UVA, os efeitos calculados com base no planejamento (Tabela 19), indicam um forte efeito positivo com o aumento do pH e um pequeno efeito positivo com o aumento da massa de fotocatalisador, o que sugere a máxima eficiência de degradação nas condições do experimento 4 [massa: (+) e pH: (+)].

Diferentemente do observado para a radiação UVC, em que um importante efeito de segunda ordem influenciava a degradação dos 3 estrogênios, algum efeito de segunda ordem pode ser observado somente na degradação do estrogênio E1, o que implica em um efeito não equivalente do pH para ambos os níveis de massa. Este efeito de segunda ordem pode ser mais facilmente observado na representação geométrica (Figura 25b), que mostra diferenças pouco significativas na capacidade de degradação do sistema quando se utilizam massas de fotocatalisador equivalentes a 250 ou 750 mg L⁻¹ e elevados valores de pH. Porém, ao contrário do observado para UVC, há um efeito positivo (+19) quando a mudança de massa é realizada em baixos valores de pH. Este positivo efeito da massa de fotocatalisador sugere uma maior relevância dos processos fotocatalíticos sobre os fotolíticos, o que se mostra coerente com a baixa capacidade de degradação usualmente permitida pela radiação UVA.

Ensaio adicionais de degradação em sistemas assistidos por radiação UVA foram realizados em pH próximo de 7, em função do pH natural do esgoto tratado ser próximo a este valor. Em geral, degradações próximas a 80% foram observadas para os 3 hormônios em tempos de reação de 10 min, empregando-se 250 mg L⁻¹ de TiO₂.

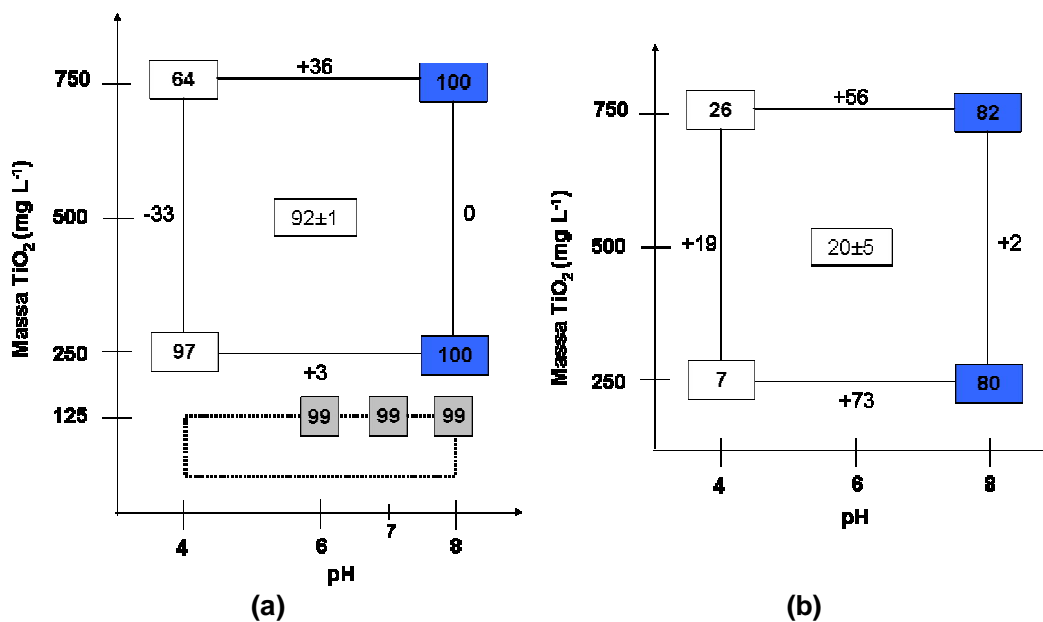


Figura 25. Representação geométrica do planejamento 2² para a remoção fotocatalítica do estrogênio E1 frente a radiação (a) UVC e (b) UVA.

Com base nos resultados obtidos neste planejamento foi possível propor uma equação linear que descreve a eficiência de degradação da fotocatalise assistida por radiação UVA em função do pH e da concentração do fotocatalisador, assim como a superfície de resposta apresentada na Figura 26.

$$y = -33,07 + 12,75 (\text{pH}) + 0,014 (\text{Conc TiO}_2) \quad (27)$$

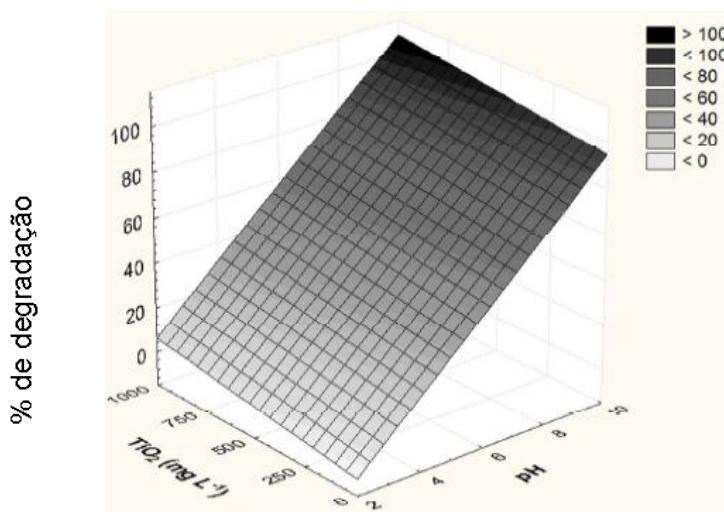


Figura 26. Superfície de resposta que relaciona a eficiência de degradação de E2 pelo sistema TiO_2/UVA em função do pH e da concentração de TiO_2 .

De acordo com a análise de variância (ANOVA) apresentada na Tabela 20, o modelo linear se mostrou significativo em um nível de confiança de 95%, apresentando um erro puro relativamente baixo (50,00), o que indica uma boa reprodutibilidade dos dados experimentais. Adicionalmente, o modelo se mostrou capaz de apresentar boas previsões, uma vez que o valor de F calculado para a regressão (9,78) é maior do que o valor de F crítico (6,94) e o F calculado para a falta de ajuste (9,83) é menor do que o valor de F crítico (19,00).

A boa modelagem dos processos assistidos por radiação UVA e as dificuldades encontradas na modelagem dos processos assistidos por radiação UVC, mesmo utilizando-se equações de ordem superior, reafirma a existência de diferenças mecânicas entre ambos os processos, diferenças estas associadas à diferença energética da radiação utilizada.

Tabela 20. Análise de variância para modelo linear desenvolvido a partir de dados de degradação de E2 por fotocatalise heterogênea empregando TiO_2 /UVA.

Fonte de variação	Soma quadrática	Graus de liberdade	Média quadrática	F calc.	F tab.
Regressão	2650,00	2	1325,00	9,78	6,94
Resíduo	541,71	4	135,43		
Falta de ajuste	491,71	2	245,86	9,83	19,00
Erro puro	50,00	2	25,00		
Total	3191,71	6			
% de variância explicada	83,03				
% máx. de variância explicada	98,43				

Inúmeros trabalhos discutem a influência do pH e da quantidade de catalisador na eficiência de degradação dos processos fotocatalíticos. Normalmente, o efeito do pH é atribuído à sua influência na distribuição de cargas na superfície do fotocatalisador e nos equilíbrios de protonação dos substratos, o que, por sua vez, se relaciona com a adsorção preliminar dos substratos na superfície do catalisador. O efeito da massa, por sua vez, é dependente de fatores como potência da fonte de radiação e geometria do reator, sendo que, usualmente, elevadas concentrações de fotocatalisador tendem a diminuir a eficiência dos processos, em razão de diminuir a penetração da radiação no meio.

Em estudos de degradação de E1 e E2 utilizando lâmpadas com emissão UVC, Zhang *et al.*, (2007) observaram um aumento na velocidade inicial de degradação com o aumento da quantidade de fotocatalisador de $0,5 \text{ g L}^{-1}$ a 1 g L^{-1} , assim como redução significativa a partir desta concentração. A melhora observada entre $0,5$ e $1,0 \text{ g L}^{-1}$ foi atribuída ao aumento de sítios ativos disponíveis, enquanto que a queda a partir de $1,0 \text{ g L}^{-1}$ foi atribuída à dificuldade na penetração da radiação UV no meio de reação. Explicação similar foi registrada por Wong e Chu (2003), na degradação do herbicida alachlor.

Mai *et al.* (2008) estudaram o efeito da massa de TiO_2 na fotocatalise de E2 em pH 7 e 10, empregando uma lâmpada com emissão UVA. Os autores constataram que a eficiência do processo de degradação aumenta com o aumento da quantidade de catalisador de $0,1$ até $0,5 \text{ g L}^{-1}$. A partir deste valor, é observada significativa perda na eficiência de degradação. Em um trabalho com amostras de água de rio desenvolvido em escala piloto, Benotti *et al.* (2009) utilizaram 4 lâmpadas UVC e obtiveram a completa remoção de E1, E2 e EE2 utilizando apenas 50 mg L^{-1} de TiO_2 em suspensão.

Bahnemann *et al.* (2007) também encontraram resultados que mostram que o catalisador deixa de influenciar no processo a partir de determinados valores, mas

ressaltam que esse valor é dependente da geometria e condições de trabalho do reator e recomendam que a quantidade ótima de catalisador seja sempre pesquisada.

A esse respeito, os resultados do presente estudo são coerentes com estudos realizados por Sirtori *et al.* (2006), nos quais também foram observados efeitos pouco significativos da concentração do semiconductor em processos fotocatalíticos envolvendo o uso de radiação UVA e do mesmo tipo de reator.

Com relação ao efeito do pH, Coleman *et al.* (2000) relataram aumento da eficiência de degradação de 17 β -estradiol quando o pH aumenta de 2 a 7, ao passo que entre pH 7 e 10 é possível observar uma significativa perda de eficiência. Na degradação de estrona e 17 β -estradiol Zhang *et al.* (2007) também relataram que uma melhora do processo de degradação ocorre de pH 2 até 7,6, a partir do qual volta a haver perda de eficiência.

Bahnmann *et al.* (2007) avaliaram a influência do pH na fotodegradação de diversos compostos, encontrando situações em que a eficiência aumenta com o aumento do pH e outras que respondem ao contrário. Os autores consideram que a existência de interações eletrostáticas entre a superfície do semiconductor, moléculas de solvente, substrato e radicais formados durante o processo de reação tornam difícil a interpretação desse efeito. Geralmente, admite-se que a superfície do TiO₂ pode ser protonada ou desprotonada em valores de pH inferiores ou superiores ao do ponto isoelétrico (pH \approx 6,5), respectivamente, o que faz com que as suas propriedades superficiais sejam altamente dependentes do pH. Assim, o efeito do pH deve ser analisado conjuntamente com a fórmula estrutural do analito, principalmente no que diz respeito às possibilidades de formação de compostos que se atraiam eletrostaticamente. Adicionalmente, maiores eficiências de degradação costumam ser observadas em meio alcalino, em razão da maior concentração de íon hidroxila favorecer a geração de radical hidroxila que se dispersariam e atuariam no bulk da solução. Diversos resultados de aumento da eficiência de degradação de pesticidas e compostos fenólicos em pH alcalino também são apresentados por Ahmed *et al.* (2011).

Em função dos resultados acima comentados, estudos subsequentes foram realizados na presença de radiação UVC, utilizando-se 250 mg L⁻¹ TiO₂ e pH 7,0-7,5 (pH natural do esgoto tratado). Nestas condições, a remoção dos estrogênios por adsorção na superfície do fotocatalisador é pouco significativa, usualmente alcançando valores muito próximos ao desvio padrão característico do método cromatográfico utilizado como controle (Figuras 27-29). Por sua vez, o processo fotocatalítico permite a rápida degradação dos estrogênios, o que faz com que a sua concentração residual seja inferior ao limite de quantificação do método (0,05 mg L⁻¹), em tempos de reação inferiores a 10 min. Nas condições de trabalho, a ação isolada da radiação UVC (fotólise) também

permitiu eficiente degradação dos estrogênios em estudo, as vezes com maior eficiência que a própria fotocatalise (Figuras 27-29).

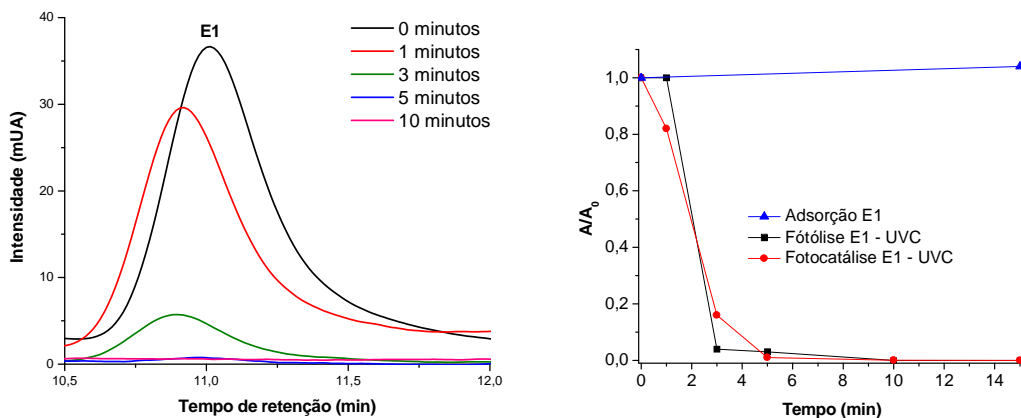


Figura 27. Modificação do perfil cromatográfico durante a fotocatalise (A) e da área integrada durante a aplicação de processos de adsorção, fotólise e fotocatalise heterogênea (B) nos estudos de degradação de estrona com TiO₂ em suspensão e radiação UVC (estrone: 20,0 µg L⁻¹, volume: 220 mL, pH: 7,3, TiO₂: 250 mg L⁻¹)

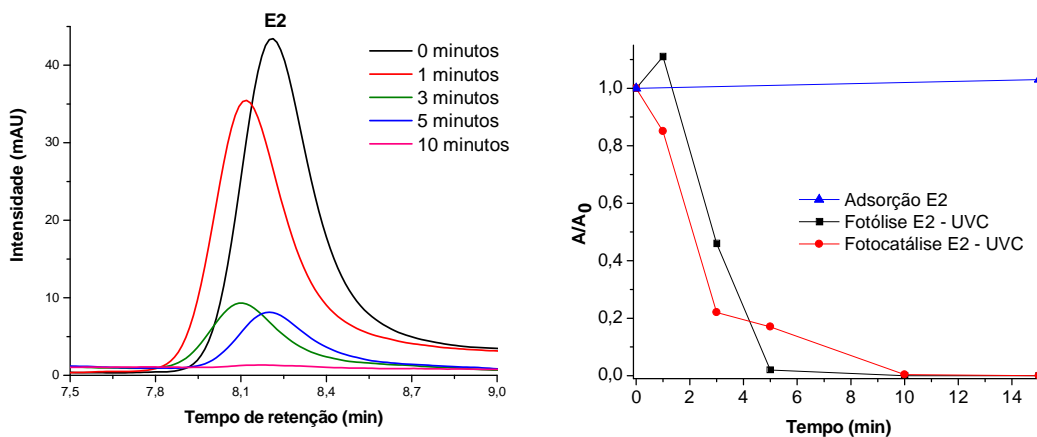


Figura 28. Modificação do perfil cromatográfico durante a fotocatalise (A) e da área integrada durante a aplicação de processos de adsorção, fotólise e fotocatalise heterogênea (B) nos estudos de degradação de 17β-estradiol com TiO₂ suspensão e radiação UVC (17β-estradiol: 20,0 µg L⁻¹, volume: 220 mL, pH: 7,3, TiO₂: 250 mg L⁻¹)

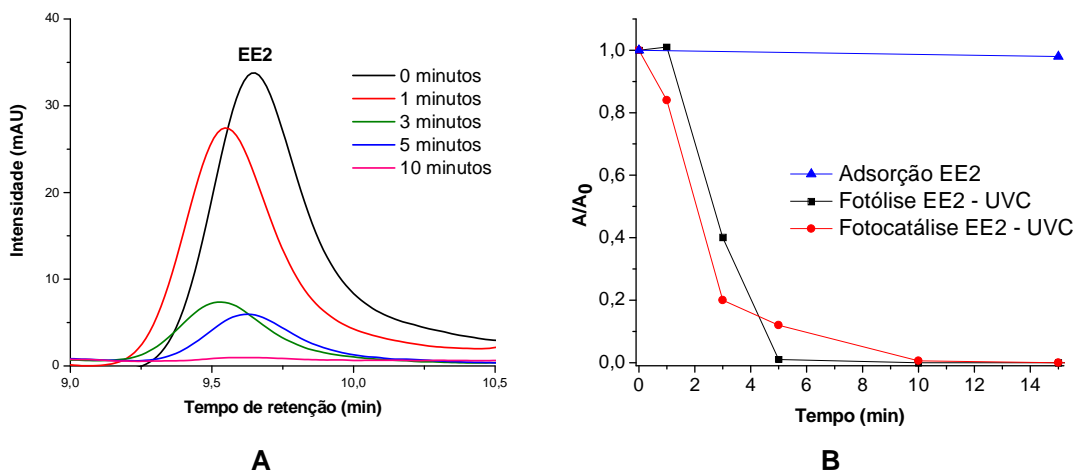


Figura 29. Modificação do perfil cromatográfico durante a fotocatalise (A) e da área integrada durante a aplicação de processos de adsorção, fotólise e fotocatalise heterogênea (B) nos estudos de degradação de 17 α -etinilestradiol com TiO₂ suspensão e radiação UVC (17 α -etinilestradiol: 20,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, volume: 220 mL, pH: 7,3, TiO₂: 250 mg L⁻¹)

Os estrogênios apresentam elevada absorvidade na região ultravioleta, o que faz com que exista uma competição entre o substrato e o fotocatalisador pela absorção de fótons (COLEMAN *et al.*, 2004). Em função deste fato, o efeito da radiação ultravioleta já foi relatado em trabalhos anteriores, sendo usualmente correlacionado com a quebra de ligações mais lábeis. Dentre os estrogênios, estrona apresenta a maior absorvidade na região UVB, o que faz com que este substrato seja mais susceptível à degradação por fotólise (ATKINSON *et al.*, 2011). Em geral, estima-se que tal comportamento pode estar relacionado com a presença do grupo carbonila, que pode ser excitado para o seu estado tripleto (LIN e REINHARD, 2005). Estudos realizados por Atkinson *et al.* (2011) e Leech *et al.* (2009) também demonstraram que a eficiência de degradação dos hormônios E1, E2 e EE2 por fotólise está diretamente relacionada a intensidade da fonte de radiação, com uma degradação mais rápida sendo verificada sob condições de maior intensidade luminosa.

Liu e Liu (2004), em ensaios de fotólise envolvendo o uso de radiação UVC ($\lambda = 254 \text{ nm}$, 30 W), observaram degradações da ordem de 95% para E1 e de 60% para E2. Adicionalmente, foi observado que o processo de fotólise ocorre mais facilmente em baixas concentrações do estrogênio (3 a 20 mg L⁻¹) e em maiores valores de pH (pH > 5). Estudos realizados por Zhang *et al.* (2010) confirmam o efeito da concentração dos estrogênios, em função de se observarem taxas de degradação de 92 e 65% para

concentrações de 0,61 e 1,95 mg L⁻¹, respectivamente, após 30 minutos de exposição.

Li Puma *et al.* (2010), em ensaios de fotólise envolvendo o uso de uma lâmpada de menor potência (8 W, $\lambda = 254$ nm), verificaram degradações da ordem de 60% para E2, EE2 e E3 e de mais que 98% para E1, em 180 min de tratamento. Na presença de TiO₂ (0,4 g L⁻¹, pH 4) a degradação de todos os estrogênios testados alcançou valores entre 90 e 95%, em 50 min de tratamento. Neste caso, a menor potência da lâmpada parece ter reduzido a capacidade de degradação do processo de fotólise, o que permitiu constatar importante degradação por fotocatalise.

Em função da importante contribuição da radiação UVC no processo de fotocatalise, estudos adicionais nas mesmas condições já testadas foram realizados na presença de radiação de menor energia (UVA). Os resultados deste estudo (Figura 30) indicam que o efeito isolado da radiação UVA (fotólise) somente é significativo para estrona (E1), hormônio que é degradado apenas em 25% após uma hora de exposição (Figura 30A). Por sua vez, a fotocatalise mostra um desempenho inferior àquele observado na presença de radiação UVC. Entretanto, taxas de degradação da ordem de 90% puderam ser observadas em tratamentos de 30 min.

Nesse mesmo período, o processo de adsorção apresentou valores de 10% para os três hormônios, atingindo 25% após uma hora.

Ohko *et al.*, (2002) em trabalho envolvendo o uso de TiO₂ (1 g L⁻¹) e radiação UVA ($\lambda > 365$ nm, 200 W) também relataram baixa adsorção de E2, com efeito negligenciável da fotólise após uma hora de exposição. Em relação ao efeito fotocatalítico eles observaram degradação de 99% de E2 em 30 minutos de reação. Apesar de esses resultados terem sido melhores que os obtidos neste trabalho, somente 8 mL de solução foram tratados.

Resultados semelhantes para a fotólise de E1 e E2 sob o efeito de uma lâmpada de alta pressão de vapor de mercúrio (125 W, $\lambda > 365$ nm) foram ainda relatados por Liu e Liu (2004). Os resultados mostraram que E2 não sofreu fotólise nessas condições, enquanto que a concentração de E1 diminuiu aproximadamente 55% em 60 minutos. Os autores também relataram que o processo de fotólise é favorecido na faixa de pH de 6-8 e que a porção fenólica dos estrogênios é oxidada a cetona. Em trabalho semelhante, Liu *et al.* (2003) relatam 10 % de degradação de EE2 por fotólise, em condições otimizadas de pH (pH = 7) e radiação UVA ($\lambda > 313$ nm).

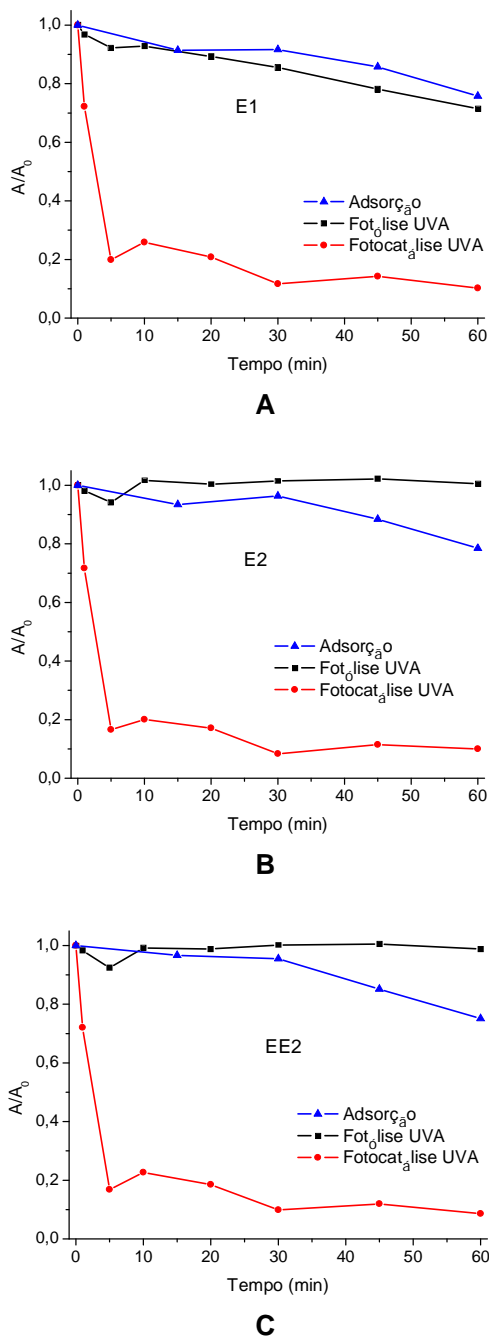


Figura 30. Modificação da área integrada durante a aplicação de processos de adsorção, fotólise e fotocatalise heterogênea nos estudos de degradação fotocatalítica da estrona (A), 17 β -estradiol (B) e 17 α -etinilestradiol (C) com TiO₂ suspensão e luz UVA. (Solução de 20,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, volume: 220 mL, pH: 7,3, TiO₂: 250 mg L⁻¹)

Recentemente Li Puma *et al.* (2010) avaliaram o efeito da fotólise e da fotocatalise para uma mistura dos estrogênios E1, E2, EE2 e E3. Para fotólise, utilizando uma lâmpada UVA de 8 W (300 a 420 nm – máx. 355 nm) e pH mantido em 7,0, a degradação do estriol não foi significativa após 180 minutos, enquanto E1, E2 e EE2 degradaram 49, 20 e 25%, respectivamente, com adsorção próxima a 5%. Em relação a fotocatalise sob luz UVA os autores observaram em 120 minutos degradações entre 92 e 97% para os hormônios testados.

Objetivando avaliar diferenças entre os processos de fotólise UVC e fotocatalise UVC, estudos cromatográficos mais detalhados foram conduzidos, principalmente com o intuito de verificar o surgimento de intermediários. Em primeiro lugar, é importante salientar que os processos de fotólise e fotocatalise levam à geração de sub-produtos com diferentes tempos de retenção (Figura 31), o que implica em mecanismos de degradação diferenciados. Outra constatação importante está representada pela ausência de sinais em prolongados tempos de tratamento (60 min), o que implica na geração e posterior degradação de intermediários, em ambos os processos.

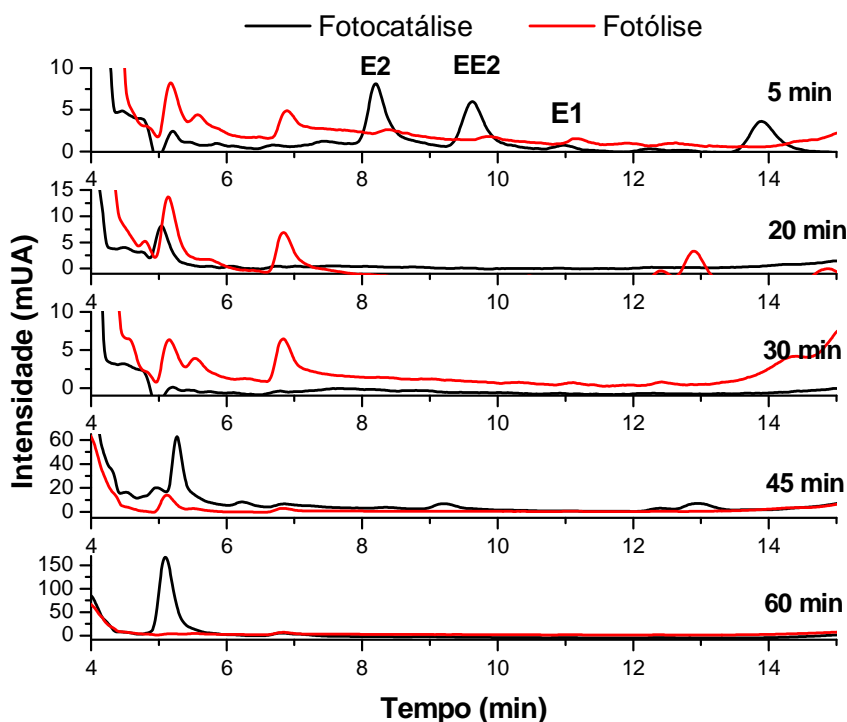


Figura 31. Subprodutos gerados por fotólise UVC e fotocatalise UVC em diferentes tempos de degradação (E1, E2 e EE2: 20,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, volume: 220 mL, pH: 7,3, concentração de TiO_2 na fotocatalise: 250 mg L^{-1})

No processo de fotólise, nos primeiros 30 minutos de degradação foram observados picos com tempo de retenção próximo a 7 e 13 minutos. Em relação à fotocatalise, após 5 minutos de tratamento foi observado um pico com tempo de retenção próximo a 14 minutos, e após 45 minutos de tratamento foram observados 2 picos com tempos de retenção próximos a 9 e 13 minutos. Em ambos os casos não foram observados picos após 60 minutos de tratamento.

A determinação de uma prova em branco, contendo somente água e catalisador, mostra a presença de um pico centrado em 5,26 min, provavelmente em decorrência de algum tipo de impureza, o qual se intensifica em tempos de reação mais prolongados, impedindo uma avaliação mais detalhada desta região.

Em relação à geração de subprodutos da degradação de estrogênios determinados por HPLC-UV e HPLC-Flu, somente dois relatos foram encontrados na literatura. Ohko *et al.* (2002) analisaram as soluções da degradação de E2 por fotocatalise/UVA por HPLC-Flu, verificando a inexistência de subprodutos fluorescentes com excitação em 280 nm e emissão em 306nm, sugerindo a destruição do anel fenólico do E2. Em relação ao monitoramento de subprodutos por HPLC-UV ($\lambda = 275$ nm), os autores relatam a formação de um subproduto levemente mais hidrofílico que o E2, e um pico eluindo com maior tempo de retenção, indicativo de um composto mais hidrofóbico, porém estes subprodutos não puderam ser identificados.

Whidbey *et al.* (2012) identificaram a lumiestrona, um isômero R-S da estrona, como o principal subproduto da fotólise da estrona (53%) quando esta é submetida a degradação por radiação UVA ($\lambda > 300$ nm). As quantificações por HPLC-UV com detecção em 220 nm, em condições cromatográficas próximas as aplicadas neste trabalho, mostraram que a estrona elui em aproximadamente 7 minutos e a lumiestrona elui próximo a 11 minutos.

Em relação ao processo de degradação de estrogênios por fotólise, alguns estudos têm sugerido que grande parte da absorção de radiação por estes substratos é relacionada com o grupo fenólico, levando a sua degradação por fotólise direta (ROSENFELDT e LINDEN, 2004, MAZELLIER *et al.*, 2008). Buscando elucidar as estruturas dos subprodutos gerados nos processos de fotólise e fotocatalise, bem como os possíveis mecanismos de degradação, alguns trabalhos têm feito uso de técnicas cromatográficas acopladas a detectores de massa.

Estudos de degradação por fotólise dos estrogênios E2 e EE2, utilizando duas fontes de radiação (lâmpada UV de 6 W: λ de 254 nm; lâmpada policromática de 6 W: $\lambda > 290$ nm), realizados por Mazellier *et al.* (2008), demonstraram que a radiação de maior energia proporciona degradações até 10 vezes mais rápidas, principalmente via mecanismos que envolvem o ataque de grupos hidroxila e a formação de estruturas

quinônicas. A identificação de subprodutos por GC/MS e LC/MS sugere que a degradação de E2 se inicia pela hidroxila não aromática, com posterior transformação do grupo fenólico em quinona. Para EE2 somente compostos quinônicos foram observados.

Bourcier *et al.* (2010) realizaram ensaios de fotólise com E1, E2, EE2, E3, estrona deuterada (E1-d₄) ou éter metil estrona (CH₃E1). As referidas soluções foram irradiadas por 90 minutos, sendo utilizada uma lâmpada a vapor de mercúrio de alta pressão (125 W), com emissão na faixa de 250 a 620 nm. A Quantificação dos subprodutos gerados foi efetuada por LC/MS/MS nos modos positivo e negativo, o que permitiu a proposta de mecanismos de degradação fotolítica. Em outro trabalho do mesmo grupo (SOUISSI *et al.*, 2012), ensaios de fotólise de E1 empregando uma lâmpada de alta pressão de vapor de mercúrio (125W) com emissão na faixa de 200 a 1100 nm, identificaram por LC-Q-TOF nove subprodutos gerados na reação e todos mantiveram a estrutura fenólica do hormônio. A análise de águas naturais fortificadas com E1 também mostrou a presença desses nove subprodutos, sugerindo que substâncias encontradas naturalmente nesses ambientes não interferem no processo de degradação por fotólise.

Em relação aos mecanismos de degradação por TiO₂ e radiação UVA, até o momento são conhecidos resultados de LC-MS-MS realizados para E2 (MAI *et al.*, 2008) e EE2 (SUN *et al.*, 2010) utilizando uma lâmpada UVA de baixa pressão de vapor de mercúrio (λ = 365-370 nm, 8 W). Estes resultados demonstram que o processo fotocatalítico pode induzir a degradação de estrogênios, não apenas pela ação de radical hidroxila, mas também das lacunas fotogeradas. MAI *et al.* (2008), por exemplo, em estudos envolvendo a degradação fotocatalítica de 17 β -estradiol (5 mg L⁻¹), verificaram a ocorrência destas duas vias reacionais, propondo o ataque preliminar do anel fenólico da molécula, com formação de espécies polidroxiladas e quinonas, respectivamente. Embora o estrogênio tenha sido removido de forma praticamente completa em tempos de reação de 40 min, alguns intermediários permanecem por tempos de, pelo menos, 60 min. Estas vias reacionais também foram explicitadas por Ohko *et al.* (2002), em estudos de degradação fotocatalítica de E2 e detecção por GC/MS.

A degradação fotocatalítica do EE2 foi estudada por Sun *et al.* (2010) nas mesmas condições descritas por Mai *et al.* (2008). Neste estudo foi avaliada a influência do pH (3, 7 e 10) e da presença de metanol no mecanismo de degradação do estrogênio, verificando-se 3 vias reacionais. O caminho principal está representado pelo ataque de radical hidroxila no anel fenólico, enquanto que a segunda proposta envolve a degradação do anel aromático pela ação da lacuna fotogerada. A terceira rota, envolvendo o ataque no carbono α do anel aromático (reação foto-Kolbe), foi considerada de menor importância, uma vez que só ocorre em pH 7 e na presença de metanol. Mais uma constatação importante foi a completa eliminação dos intermediários, em tempos de

reação da ordem de 120 min.

Recentemente, estruturas quinônicas e polihidroxiladas também foram propostas por Frontistis *et al.* (2012) em estudos de degradação de EE2 por radiação UVA.

Provavelmente a maior diferença observada entre processos de fotólise e fotocatalise esteja relacionada com a capacidade de mineralização. Enquanto o processo de fotólise apenas induz a quebra das ligações mais lábeis, o processo de fotocatalise propicia mineralizações praticamente completas (OHKO *et al.*, 2002). Além disso, os resultados de fotólise sugerem que todas as espécies transientes derivam inicialmente de processos de degradação envolvendo a parte não fenólica das moléculas em estudo, enquanto a fotocatalise permite o ataque direto ao anel fenólico. Entretanto, em função da rápida degradação dos estrogênios e da formação de intermediários que podem apresentar atividade estrogênica, o monitoramento desta característica durante os processos de degradação é defendido na literatura (ESCHER e FENNER, 2011; PEREIRA *et al.*, 2011b).

Apesar da avaliação estrogênica dos subprodutos gerados não ser enfocada neste trabalho, alguns relatos da literatura merecem ser discutidos. Em primeiro lugar, é importante salientar que o anel fenólico é considerado por alguns autores como o principal responsável pela estrogenicidade apresentada pelos estrogênios (OHKO *et al.*, 2002; WHIDBEY *et al.*, 2012).

Zhang *et al.* (2010) verificaram a remoção simultânea do substrato EE2 e da atividade estrogênica do meio, na presença de H₂O₂/UVC. Em estudo de degradação de E2 por ozonização, Bila *et al.*, (2007b) observaram que a quebra do anel fenólico leva à remoção da estrogenicidade do meio reacional.

Dados controversos estão relacionados à degradação do anel fenólico por processos de fotólise. Liu e Liu (2004) sugeriram que a radiação UVC destrói completamente a parte fenólica dos compostos E1 e E2, fator avaliado por análise de infra-vermelho no qual foi comprovado o desaparecimento de sinais referentes a parte fenólica dos estrogênios E1 e E2, o que, segundo os autores, levaria à eliminação da atividade estrogênica. Esses resultados são contrários aos obtidos por Soussi *et al.* (2012), que demonstraram a existência do anel fenólico da estrona em nove subprodutos identificados por LC-Q-TOF, usando degradação com lâmpada de alta pressão de vapor de mercúrio (125W) com emissão na faixa de 200 a 1100 nm.

Estudos realizados por Coleman *et al.* (2004) comparando a remoção da atividade estrogênica dos compostos E1, E2 e EE2 quando tratados por fotocatalise com óxido de titânio suportado e luz UVA, em relação ao processo de fotólise por luz UVA, demonstraram que a completa remoção da atividade estrogênica é obtida em tempos próximos a uma hora de tratamento pela fotocatalise, enquanto o processo de fotólise

demora 9 vezes mais para estradiol, 6 vezes mais para estrona e 2,4 vezes mais para 17 α -etinilestradiol.

Resultados obtidos por Ohko *et al.*, (2002) sugerem que a reação de degradação de E2 ocasionada por TiO₂ e luz UVA (λ = 365 nm) é iniciada pela quebra do anel fenólico, e que a degradação fotocatalítica do E2 além de promover uma rápida eliminação do substrato, causa um decaimento proporcional da estrogenicidade do meio, o que demonstra a formação de intermediários sem atividade deste tipo.

Entretanto, o processo biológico envolvido na determinação de substâncias estrogênicas tem se mostrado complexo. Em estudos recentes de fotólise empregando radiação UVB, simulando radiação solar, Atkinson *et al.* (2011) observaram que a degradação de E1 gerou subprodutos com atividade estrogênica, enquanto EE2 não. Estudos posteriores desse grupo (TRUDEAU *et al.*, 2011) caracterizaram o principal subproduto gerado por fotólise de E1 como sendo a lumiestrona, um isômero de E1 que mantém a estrutura fenólica. Em ensaios in vivo foi constatado que E1 apresentou estrogenicidade para o receptor estrogênico obtido a partir de fígado de peixe ouro macho, enquanto a lumiestrona não apresentou efeito, sugerindo uma perda total de estrogenicidade, mesmo em presença do anel fenólico. Porém, ensaios in vitro indicaram que lumiestrona mostrou um potencial estrogênico mais elevado com receptores específicos de peixe zebra, sugerindo que a molécula pode atuar através de receptores seletivos. Além disso, a lumiestrona também ativou receptores humanos.

Recentemente, Whidbey *et al.* (2012) realizaram testes de degradação de E1, E2 e EE2 por fotólise direta sob radiação solar simulada e também observaram estrogenicidade a partir da lumiestrona. Os subprodutos dos hormônios E2 e EE2 não apresentaram atividade estrogênica.

Todos estes resultados indicam que a estrogenicidade apresenta algum nível de correlação com a estrutura fenólica dos estrogênios, sendo reduzida de forma proporcional à eliminação desse grupamento, o que ocorre basicamente em função da velocidade de ataque e quebra do grupo aromático. Entretanto, em estudos de degradação de EE2 por ozonização, Larcher *et al.* (2012) identificaram dois subprodutos cujos anéis foram abertos pelo processo reacional e mesmo assim apresentaram pequena atividade estrogênica, demonstrada após processo de pré-concentração desses subprodutos. Além disso, apesar da baixa atividade estrogênica, esses dois subprodutos mostraram forte impacto negativo na secreção de testosterona em testes realizados com testículos de fetos de rato. Em outro estudo recente, envolvendo a degradação de EE2 por processos Fenton, Chen *et al.* (2012) isolaram dois subprodutos com estrutura quinônica que apresentaram estrogenicidade levemente superior a do EE2.

Em nosso trabalho, estudos de identificação de intermediários por LC-MS ainda devem ser realizados para uma definitiva diferenciação dos processos de fotólise, fotocátalise e fotólise/fotocátalise mediados por radiação UVA (bulbo de vidro) e UVC (bulbo de quartzo).

5.2.3 Degradação fotocatalítica de estrogênios na presença de ZnO e luz artificial

Estudos similares aos anteriormente relatados para TiO_2 foram realizados com processos fotocatalíticos aplicados na presença de ZnO. Neste caso, entretanto, os processos foram assistidos apenas por radiação UV-A, em razão da elevada fotoatividade do ZnO em comprimentos de onda próximos a 400 nm (MALATO *et al.*, 2009).

Assim como realizado para TiO_2 , primeiramente foi avaliado o efeito das variáveis pH (4 e 8) e massa de ZnO (250 e 750 mg L^{-1}) na eficiência de degradação fotocatalítica dos estrogênios, utilizando o planejamento fatorial 2^2 descrito na Tabela 21. Os ensaios foram realizados com 220 mL de amostra, contendo 20 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cada estrogênio, avaliando-se a degradação dos estrogênios em tratamentos de 10 min. Ensaios adicionais foram realizados em pH 5 e 7, mantendo-se a concentração de fotocatalisador nos níveis antes estudados.

Tabela 21. Planejamento fatorial 2^2 para otimização do processo de fotodegradação dos hormônios em concentrações de 20,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ (tempo de reação: 10 min).

Ensaio	Variáveis		Degradação (%)		
	pH	Massa de ZnO	E1	E2	EE2
1	-	-	15	16	9
2	+	-	26	25	21
3	-	+	13	12	11
4	+	+	30	28	24
5/6/7	0	0	20 \pm 2	15 \pm 2	17 \pm 1
8	5	-	19	16	16
9	7	-	18	17	16
10	5	+	20	19	21
11	7	+	28	26	26

Variável	Efeitos		
	E1	E2	EE2
pH	13	12	14
Massa de TiO_2	- 0,2	2	0,9
pH x Massa	4	0,7	3

Os efeitos calculados com base no planejamento indicam uma influência positiva do pH (aproximadamente 13 pontos percentuais) e uma influência praticamente desprezível da concentração de fotocatalisador (valores entre -0,2 e 2,0) e do efeito

combinado de ambas as variáveis (valores entre 0,7 e 4,0), o que faz com que as melhores taxas de degradação sejam observadas em pH 8, praticamente sem diferenças em função da concentração do ZnO (experimentos 2 e 4). Nestas condições, taxas de degradação entre 20 e 30% são observadas para os 3 estrogênios, em 10 min de tratamento.

Nos estudos adicionais (experimentos 8 a 11), foi constatado que se mantendo a concentração de ZnO no nível inferior (250 mg L^{-1}), a eficiência de degradação diminui significativamente quando valores de pH entre 5 e 7 são utilizados. Neste caso, entretanto, o uso de maiores concentrações do fotocatalisador (750 mg L^{-1}) propicia taxas de degradação comparáveis às observadas em pH 8, utilizando-se valores de pH mais próximos à realidade das amostras de esgoto (aproximadamente 7).

Vários estudos tem relatado o efeito do pH e da massa de ZnO na capacidade de degradação da fotocatalise frente a poluentes de relevância. Assim, eficiente degradação de resíduos papelleiros foi constatada em pH 7,6, quando utilizado ZnO em concentração de $1,0 \text{ g L}^{-1}$ (PERALTA-ZAMORA *et al.*, 1998). Empregando ZnO na degradação do corante reativo azul 19 e otimizando os parâmetros pH, e concentração de catalisador por planejamento fatorial, Lizama *et al.* (2002) obtiveram melhores resultados empregando $0,8 \text{ g L}^{-1}$ de ZnO e pH 11. Em estudo similar, Akyol e Bayramoglu (2005) relataram a degradação de remazol red F3B em pH próximo à neutralidade, utilizando-se 2 g L^{-1} de ZnO.

Elmolla e Chaudhuri (2010) utilizaram ZnO na degradação dos antibióticos amoxicilina, ampicilina e cloxacilina, observando degradações praticamente completas em 180 min de irradiação, utilizando-se $0,5 \text{ g L}^{-1}$ de ZnO e pH 11. Nestas condições, entretanto, a mineralização média dos compostos foi de apenas 9,7%.

Após 120 minutos de tratamento, a completa degradação de 2,4,6-triclorofenol (2,4,6-TCP) em presença de $0,75 \text{ g L}^{-1}$ de catalisador e pH neutro foi relatada recentemente por Gaya *et al.* (2010).

Devido aos diferentes valores de massa de ZnO encontrados na literatura, um ensaio adicional foi realizado em pH 7,3, variando-se a massa de catalisador de 750 mg L^{-1} a $2,0 \text{ g L}^{-1}$. Os resultados (Figura 32) indicam pouca influência do parâmetro na degradação dos estrogênios em estudo, motivo pelo qual a concentração de 750 mg L^{-1} foi selecionada para os estudos subsequentes.

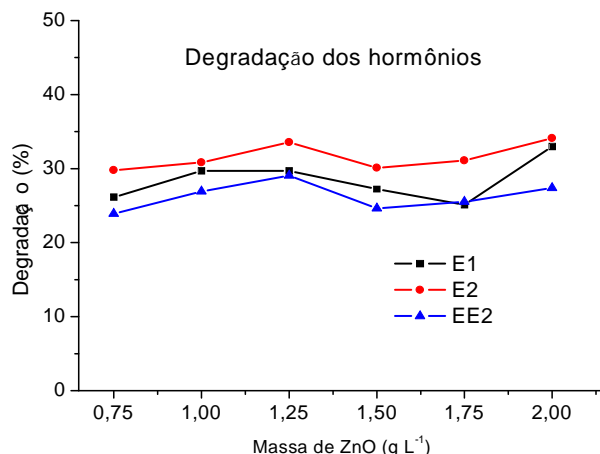


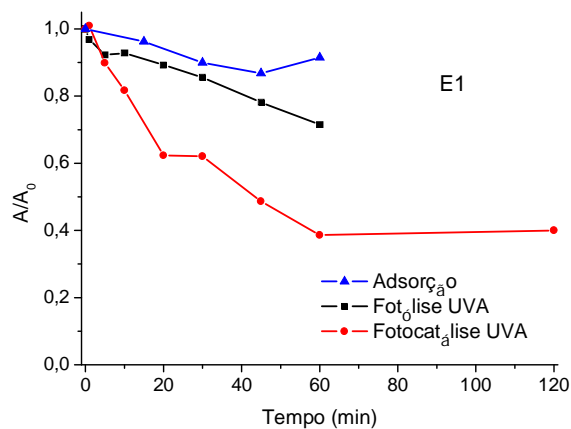
Figura 32. Degradação dos hormônios E1, E2 e EE2 variando-se a massa de catalisador de 0,750 g L⁻¹ a 2,0 g L⁻¹ (Solução de 20,0 µg L⁻¹, volume: 220 mL, pH 7,3, 10 minutos de reação).

Utilizando as condições previamente selecionadas (pH: 7,0-7,5 e ZnO: 750 mg L⁻¹) foram realizados estudos de degradação fotolítica (efeito isolado da radiação UVA) e fotocatalítica (ZnO/UVA), assim como estudos de remoção dos estrogênios por adsorção na superfície do semicondutor, na ausência de radiação.

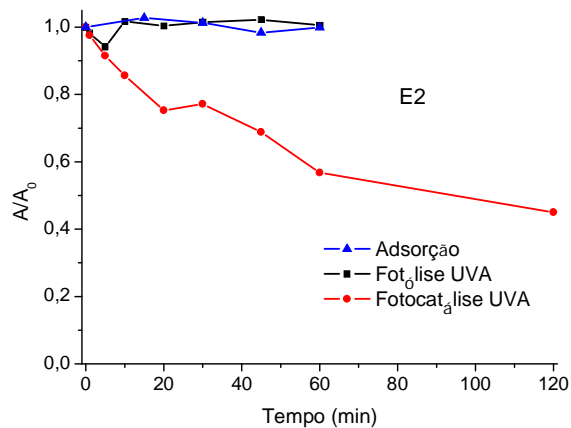
Os resultados (Figura 33) indicam que o processo de adsorção provoca remoção pouco significativa dos hormônios, com exceção de E1 com 9% de remoção em 60 min de contato. Esta capacidade de adsorção foi significativamente menor que a observada com o uso de TiO₂ (aproximadamente 20% para os três estrogênios), provavelmente em decorrência da maior área superficial do TiO₂ (50 m² g⁻¹), em relação ao ZnO (5 m² g⁻¹).

Em relação à fotólise, somente E1 sofreu degradação nas condições testadas, atingindo aproximadamente 30% após uma hora de reação.

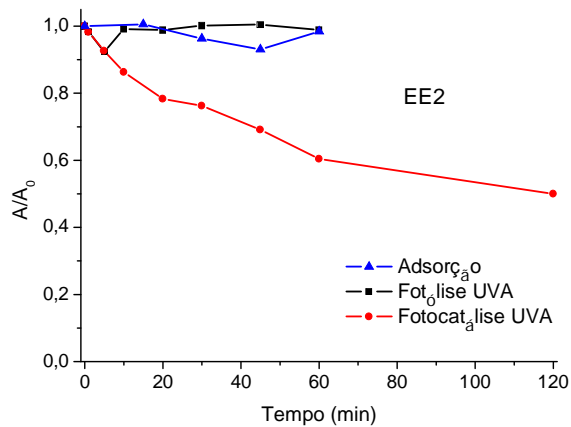
Por sua vez, a fotocatalise permitiu remoções de 61, 45 e 40% para E1, E2 e EE2, respectivamente, em 60 min de reação, com alterações pouco significativas para maiores tempos de reação (120 min). Estes resultados mostram que o processo de degradação mediado por ZnO apresenta uma eficiência da ordem de 50% em relação ao sistema operado com TiO₂, mesmo empregando-se uma massa de fotocatalisador significativamente maior.



A



B



C

Figura 33. Modificação da área integrada durante a aplicação de processos de adsorção, fotólise e fotocatalise heterogênea nos estudos de degradação fotocatalítica da estrona (A), 17β-estradiol (B) e 17α-etinilestradiol (C) com ZnO em suspensão e luz UVA. (Solução de 20,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, volume: 220 mL, pH: 7,3, ZnO: 750 mg L^{-1})

Até onde foi possível investigar, apenas um trabalho descreve um estudo de degradação de estrogênios (E1) na presença de TiO_2 e ZnO (HAN *et al.*, 2012). O estudo foi realizado em pH 10, utilizando-se $0,5 \text{ g L}^{-1}$ de catalisador e radiação UVA ($\lambda = 320$ a 385nm , 18 W , $0,43 \text{ mW cm}^{-2}$), condição em que a degradação proporcionada pelo ZnO foi 2 a 3 vezes superior à proporcionada pelo TiO_2 . A discrepância entre este resultado e o resultado observado nas condições em que este trabalho foi realizado é de difícil interpretação, em função das muitas variáveis que influenciam o processo.

Analizando diversos trabalhos relacionados com a degradação de corantes, é possível verificar que não há uma regra geral em relação à eficiência de degradação apresentada por estes fotocatalisadores (TiO_2 e ZnO), principalmente em razão do efeito de outros fatores de relevância, como pH e estrutura do substrato.

Geralmente o ZnO é mais eficiente do que TiO_2 em meio fortemente alcalino (PERALTA-ZAMORA *et al.*, 1998; LIZAMA *et al.*, 2002; KANSAL *et al.*, 2008) e, em alguns casos, em condições levemente ácidas (GOUVEA *et al.*, 2000; AKYOL *et al.*, 2004; KANSAL *et al.*, 2007). Por sua vez, o TiO_2 mostra maior eficiência de degradação em condições fortemente ácidas (SAKTHIVEL *et al.*, 2003; BANSAL e SUD, 2011). Entretanto, resultados publicados por Qamar e Munner (2009) atestam maior eficiência de degradação do TiO_2 em condições ácidas (pH 4 – 6) e igual eficiência entre TiO_2 e ZnO em condições mais básicas (pH 6 – 12).

A grande complexidade do processo pode ainda ser exemplificada pelo trabalho de Shafei *et al.* (2010), que mostra que a eficiência de degradação também é influenciada pela concentração do substrato. Assim, trabalhando em condições otimizadas de pH e massa de catalisador, os autores observaram melhores resultados para o óxido de titânio em concentrações menores do substrato e eficiência maior para o óxido de zinco em concentrações intermediárias e maiores.

Esses exemplos nos levam a supor que a significativa diferença entre os resultados obtidos por Han *et al.* (2012) e os obtidos nas condições em que este estudo foi realizado, provavelmente seja devido a diferenças no valor do pH, à potência da radiação utilizada e a presença de H_2O_2 gerado durante o processo de degradação.

Primeiramente, os experimentos de Han *et al.* (2012) foram realizados em pH 10 para diminuir o efeito da dissolução do ZnO . Além da menor dissolução, alguns autores defendem que acima do ponto de carga zero do ZnO ($\text{PCZ} > 9,0$) a superfície do catalisador fica negativamente carregada devido a adsorção de íons hidroxila. Esse fator associado às condições do meio reacional favoreceria a formação de radicais $\bullet\text{OH}$, sendo o principal responsável pelo processo de oxidação dos substratos de interesse (LIZAMA *et al.*, 2002; SAKHTIVEL *et al.*, 2003; AKYOL *et al.*, 2004). Porém, estas condições são altamente desfavoráveis para o TiO_2 frente a degradação de estrogênios.

Os resultados de Coleman *et al.* (2000), para degradação de E2 em presença de TiO_2 e luz UVA ($\lambda > 300 \text{ nm}$), realizados em valores de pH entre 1 e 12, demonstram um aumento da velocidade de degradação até pH próximo de 7 com uma queda considerável entre 7 e 10, seguido por aumento abrupto entre pH 10 e 12. O aumento entre pH 2 e 7 foi atribuído ao aumento da concentração de íons hidroxila nos sítios ativos, aumentando a geração de radicais hidroxila e promovendo a oxidação do estradiol em pH próximo de 7. A perda de eficiência a partir do pH 7 foi atribuída a uma mudança na carga superficial do catalisador, formando o íon negativo TiO^- , associada com a aproximação do pH em relação ao pKa do E2 quando ocorre a ionização do grupo fenol a fenóxi, causando repulsão aos íons hidróxi e fenóxi. Cabe ressaltar que os valores de pKa dos estrogênios E1, E2, EE2 e E3 são todos próximos a 10. Após pH 10 foi sugerido que o processo de adsorção e degradação do hormônio ocorresse por outro mecanismo, não sendo pelo grupo fenóxi.

Resultados similares também foram observados por Zhang *et al.* (2007) na degradação de E1 e E2, ocorrendo uma melhora do processo de degradação para pH 2 até 7,6, a partir do qual volta a haver perda de eficiência, com explicações similares as dadas por Coleman *et al.* (2000).

Em estudo de fotocatalise de E2 empregando radiação UVA (365 nm) e TiO_2 , Malygina *et al.* (2005) observaram que os processos de fotocatalise ocorrem mais lentamente sob condições alcalinas, pH 9, havendo perda de eficiência do pH 7 para o pH 9. Além disso, com o aumento de pH melhores resultados de degradação foram obtidos com significativas reduções na massa de catalisador, fato também observado por Lizama *et al.* (2002), quando otimizaram as condições de uso de TiO_2 e ZnO para estudos de degradação de corantes.

Um segundo fator que influencia o processo de fotocatalise é a intensidade da radiação incidente. Antecedentes da literatura sugerem que o referido efeito não é análogo para ambos os fotocatalisadores em questão, mesmo sob condições otimizadas de pH (QAMAR e MUNER, 2009). Estudos de Han *et al.* (2012), por exemplo, demonstram que TiO_2 e ZnO apresentam eficiência de degradação equivalente em processos assistidos por radiação solar de elevada intensidade, $3,9 \text{ mW cm}^{-2}$, porém melhores resultados foram obtidos para o ZnO quando ambos os catalisadores foram expostos a radiação incidente de $0,43 \text{ mW cm}^{-2}$, proporcionada por radiação UVA artificial.

Em nossos estudos, realizados sob luz artificial, a lâmpada empregada é de maior potência (125 W) proporcionando uma radiação incidente da ordem de $3,4 \text{ mW cm}^{-2}$, medidos através de um radiômetro CosmoLUX®-UVATEST 3000, e mostraram uma eficiência maior para o TiO_2 em relação ao ZnO.

A influência da radiação está relacionada ainda com efeitos de fotólise, com maior degradação ocorrendo sob exposição a maiores taxas de radiação incidente (ATKINSON *et al.*, 2011; LEECH *et al.*, 2009), porém com efeito não linear sob diferentes valores de pH (LIU e LIU, 2004). Em nosso trabalho a fotólise isolada é responsável por degradações da ordem de 29% em 60 minutos de reação, enquanto Han *et al.* (2010) não observaram efeitos de fotólise após esse período, mesmo com a estrona apresentando fotosensibilidade na região UVB (CHOWDHURY *et al.*, 2010; ATKINSON *et al.*, 2012).

Por último, o ZnO irradiado produz quantidades muito superiores de peróxido de hidrogênio e peróxidos orgânicos no meio reacional quando comparado ao TiO₂, o que é atribuído a uma menor eficiência desse catalisador em relação ao TiO₂ no processo de fotodegradação (KORMANN *et al.*, 1998). Qamar e Muner (2009), por exemplo, observaram uma melhora do processo fotocatalítico de ambos os catalisadores, TiO₂ e ZnO, em presença de H₂O₂. Nos experimentos de Han *et al.* (2012) em presença de ZnO a produção de peróxido de hidrogênio atingiu 7,6 µM (1,29 mg L⁻¹) no período de 1 hora enquanto para o TiO₂ permaneceu estável ao longo de todo o processo em 0,6 µM (0,10 mg L⁻¹), o que pode ter contribuído para os melhores resultados observados para o ZnO nas condições testadas.

Resultados similares também foram descritos por Lizama *et al.* (2002) na degradação do corante reativo azul 19 por TiO₂ e ZnO. Eles observaram que o ZnO proporcionou uma maior produção de peróxido de hidrogênio e é mais eficiente na formação do radical hidroxila a partir do ânion hidroxila sendo atribuídos como os dois principais fatores pela melhor eficiência do ZnO frente ao TiO₂. As demais condições utilizadas foram pH 11, luz UVA proveniente de uma lâmpada de 125 W, e concentração de ZnO e TiO₂ de 0,8 e 0,5 g L⁻¹, respectivamente.

5.2.4 Degradação fotocatalítica de estrogênios na presença de TiO₂, ZnO e radiação solar

Em razão de vários relatos da literatura terem proposto o uso de radiação solar com o objetivo de baratear o processo fotocatalítico, especialmente quando aplicado na presença de ZnO (DINDAR e IÇLI, 2001; SAKTHIVEL *et al.*, 2003; LEECH *et al.*, 2009; PARDESHI e PATIL, 2009), estudos de degradação empregando soluções aquosas dos estrogênios E1, E2 e EE2 foram realizados com TiO₂ e ZnO em suspensão sob luz solar, em escala de bancada.

Cabe ressaltar que poucos são os trabalhos que comparam a eficiência de ZnO e TiO₂ na presença de luz solar natural ou simulada. Destaque pode ser dado para os resultados obtidos por Sakthivel *et al.* (2003) que mostram uma melhor eficiência do ZnO

em relação ao TiO_2 quando exposto a luz solar natural, atribuída a uma maior absorção na faixa espectral fornecida pela luz solar.

Utilizando as condições otimizadas para luz artificial foram realizados ensaios de degradação de E1, E2 e EE2 com TiO_2 e ZnO em reator parabólico com exposição a luz solar. Misturas dos estrogênios E1, E2 e EE2 a $20 \mu\text{g L}^{-1}$ foram expostas à luz solar em tempos de até 45 minutos, filtradas em membranas de $0,60 \mu\text{m}$ e submetidas à rotina de determinação por HPLC-DAD-Flu.

Com o objetivo de comparar os processos com luz natural e artificial os resultados da degradação por fotólise solar são apresentados juntamente com a fotólise por radiação artificial, UVC e UVA (Figura 34). Também foram incluídos nessa figura os resultados de adsorção.

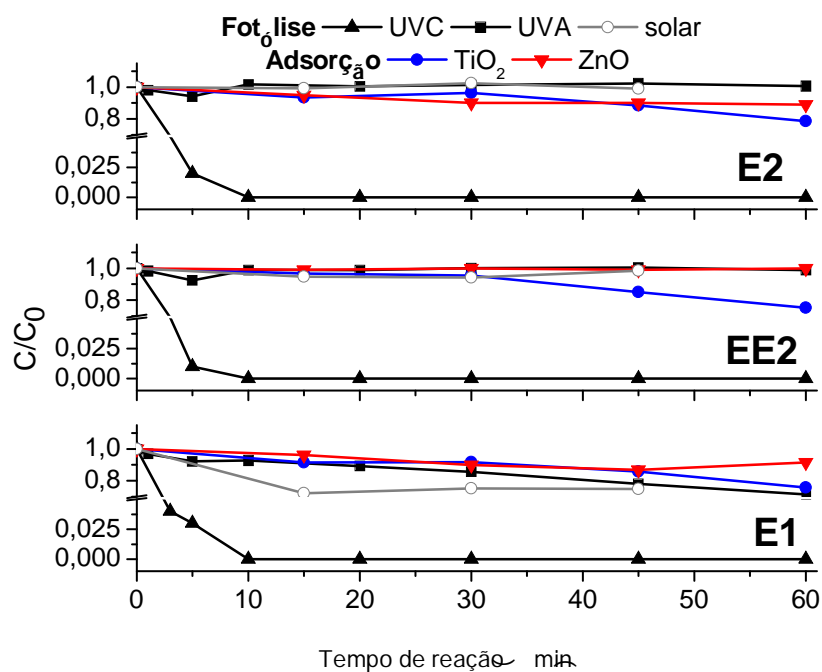


Figura 34. Remoção de E2, EE2 e E1 por fotólise (UVC, UVA e solar) e adsorção na superfície do catalisador (estrogênios $20,0 \mu\text{g L}^{-1}$, 200 mL, TiO_2 : 250 mg L^{-1} , ZnO : 750 mg L^{-1} , pH ~ 7,0). Determinação por SPE/HPLC/DAD/Flu.

A degradação de E2 e EE2 por fotólise praticamente não foi observada sob luz solar ou UVA artificial. Em relação ao E1, a fotólise solar observada (25%) foi muito próxima de fotólise com radiação UVA artificial (22%), para o mesmo tempo de reação. A radiação UVA proveniente da radiação solar foi medida através de um radiômetro Instrutherm MRUR-202 UVA, variando entre $1,2$ a $2,6 \text{ mW cm}^{-2}$.

Esses dados estão de acordo com antecedentes da literatura, uma vez observada a baixa radiação incidente em nossos experimentos.

Han *et al.* (2012) observaram fotólise inferior a 10% após 20 minutos de exposição da estrona sob luz solar direta com intensidade de $3,9 \text{ mW cm}^{-2}$. Chowdhury *et al.* (2011) mostraram que E2 apresenta uma fraca absorção na região de 290 a 350 nm, o que permite sua degradação por radiação solar, uma vez que esta apresenta em seu espectro aproximadamente 6,3% de radiação UVA (400-320 nm) e 1,5% de radiação UVB (320-290nm). Entretanto seus estudos empregando um simulador solar mostraram que uma radiação incidente de 25 mW cm^{-2} apresenta um $t_{1/2}$ de 21 horas para E2. Sob 100 mW cm^{-2} o $t_{1/2}$ do E2 caiu para 10,6 horas, mostrando uma dependência entre a intensidade da radiação incidente e a velocidade de degradação. Além disso, sob condições de maior intensidade de radiação (100 mW cm^{-2}) a degradação após 10 horas atingiu 46%, enquanto a mineralização observada foi de apenas 13%, sugerindo que o subproduto formado apresenta maior resistência à degradação/mineralização.

Aplicando uma intensidade luminosa de 65 mW cm^{-2} , Leech *et al.* (2009) observaram a remoção de 26,2% de E2 após 6 horas de exposição, com um $t_{1/2}$ de 13,6 horas.

Em relação a E1, Chowdhury *et al.* (2010) mostraram que este hormônio também apresenta absorção na região de 290 a 350 nm. Entretanto, sob radiação de 25 mW cm^{-2} o $t_{1/2}$ foi de 122,75 minutos, sob as mesmas condições experimentais testadas para E2 (CHOWDHURY *et al.*, 2011), confirmando uma maior sensibilidade sob luz solar de E1 em relação a E2, fato também observado sob luz artificial (LIU e LIU, 2004; ATKINSON *et al.*, 2011). Ainda, sob condições de maior intensidade de radiação (100 mW cm^{-2}) quase completa degradação de E1 (98,6%) foi observada após 6 horas, enquanto a mineralização atingiu 27,6%, sugerindo que o subproduto formado apresenta maior resistência à degradação/mineralização.

Entretanto, Caupos *et al.* (2011) empregaram energia solar simulada com radiação de 25 mW cm^{-2} para degradação de E1, obtendo $t_{1/2}$ 7,9 horas, muito superior ao tempo observado por Chowdhury *et al.* (2010). Além disso, eles observaram por LC-MS³ que somente um subproduto foi formado a partir da degradação de E1, o qual apresentou um tempo de retenção levemente superior ao E1, porém com as mesmas massas de fragmentação, sugerindo tratar-se de um isômero. Sob altas concentrações de E1 e determinação por CG-MS, além do subproduto citado acima, mais quatro subprodutos foram observados, porém os autores sugeriram tratar-se da formação de substâncias polihidroxiladas, sem destruição do anel aromático.

Esses resultados são coerentes com os propostos por outros autores (TRUDEAU *et al.*, 2011; WHIDBEY *et al.*, 2012) com formação de lumiestrona, um isômero da

estrona com tempo de retenção levemente superior a própria estrona, e com características estrogênicas (TRUDEAU *et al.*, 2011).

Sob radiação solar simulada, Whidbey *et al.* (2012) sugerem que os subprodutos dos hormônios E2 e EE2 não apresentaram atividade estrogênica. Porém, assim como Caupos *et al.* (2011), eles relataram a formação de substâncias polihidroxiladas para E1. Mazzelier *et al.* (2008) observaram que entre os subprodutos de degradação de E2 e EE2 há formação de fenólicos polihidroxilados ou compostos tipo quinona.

A degradação fotocatalítica dos estrogênios envolvendo o uso de TiO_2 e ZnO sob luz solar é mostrada juntamente com os resultados obtidos para luz artificial (Figura 35).

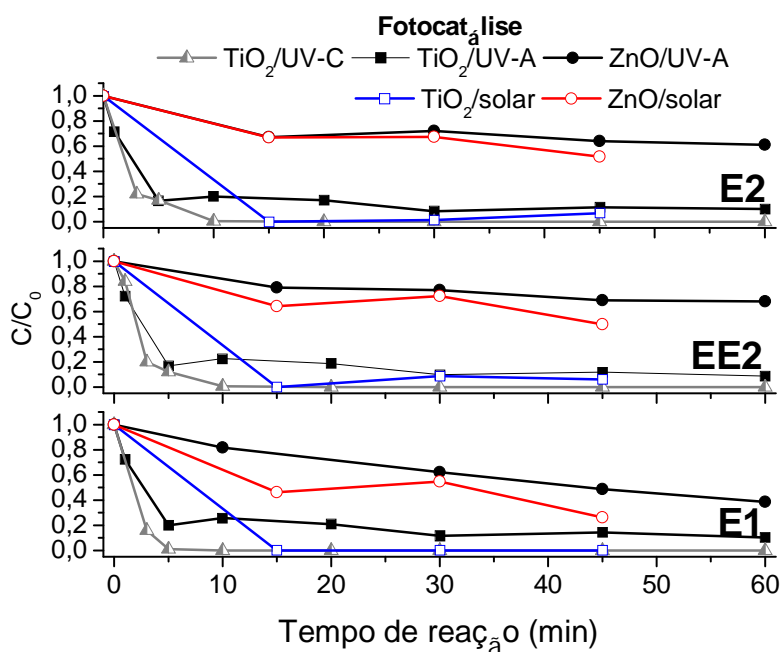


Figura 35. Remoção de E2, EE2 e E1 por fotocatalise empregando TiO_2 (UVC, UVA e solar) e ZnO (UVA e solar) (estrogênios $20,0 \mu\text{g L}^{-1}$, 200 mL , TiO_2 : 250 mg L^{-1} , ZnO : 750 mg L^{-1} , $\text{pH} \sim 7,0$). Determinação por SPE/HPLC/DAD/Flu.

No processo de degradação envolvendo TiO_2 , o uso de radiação solar proporcionou degradação quase completa dos hormônios para tempos de reação de 15 min, enquanto no mesmo tempo de reação da luz artificial UVA foi observada degradação de 90%. Essa melhora provavelmente ocorreu devido à maior faixa espectral proporcionada pela luz solar.

Em relação ao ZnO , os processos assistidos por luz solar atingiram aproximadamente 50% de eficiência de degradação em 45 minutos. Esses resultados

são levemente superiores aos obtidos com luz artificial que haviam apresentado resultados próximos a 35% em 45 minutos de tratamento.

A maior eficiência de degradação dos processos fotocatalíticos assistidos por radiação solar não foi surpreendente, devido aos bons resultados relatados em estudos envolvendo a degradação de fenol com o uso de TiO_2 , ZnO e energia solar (DINDAR e IÇLI, 2001; PARDESHI e PATIL, 2008).

Ao comparar a eficiência entre ambos, nota-se que o ZnO apresentou metade da eficiência do TiO_2 , contrário ao observado por Sakthivel *et al.* (2003) onde os resultados mostraram completa degradação do corante Acid Brown 14 frente ao ZnO em 120 minutos enquanto o TiO_2 demorou 300 minutos. Entretanto, a menor eficiência de degradação relativa do ZnO já foi demonstrada em alguns estudos envolvendo poluentes orgânicos relevantes (LIZAMA *et al.*, 2002; QAMAR e MUNEEER, 2009).

É importante salientar que a degradação dos estrogênios pelo sistema solar/ZnO (50% a 75% para tempos de reação de 45 minutos) foi mais eficiente do que o relatado em estudos de degradação envolvendo resorcinol, um modelo de desregulador endócrino, cuja completa degradação foi observada em tempos de reação de 7 horas (PARDESHI e PATIL, 2009).

Recentemente, dois artigos envolvendo a degradação de estrogênios empregando ZnO e radiação solar foram publicados. Han *et al.* (2012), em análise de degradação de estrona por ZnO e TiO_2 expostos a luz solar natural, relataram igual eficiência de ambos os catalisadores, mesmo com TiO_2 operando em suas piores condições para degradação de estrogênios, pH 10, e ZnO em suas condições otimizadas. Empregando concentração de 50 mg L^{-1} de ZnO ou TiO_2 , degradações superiores a 99% foram observadas em 15 minutos de exposição a radiação solar.

Koutantou *et al.* (2012) avaliaram a degradação de diferentes matrizes aquosas de EE2 expostas a radiação solar simulada. Para água ultra-pura, pH aproximadamente 6,5 e $11,2 \text{ mg L}^{-1}$ de ZnO em suspensão, completa degradação do estrogênio foi observada em apenas 5 minutos. Também foi observada uma forte influência do fluxo fotônico na degradação. Para 90 minutos de exposição foi verificado decréscimo na degradação de 80%, 60% e 48% com fluxos fotônicos de $5,8 \times 10^{-7}$, $5,3 \times 10^{-7}$ e $4,9 \times 10^{-7} \text{ Einstein L}^{-1} \text{ s}^{-1}$, respectivamente.

Devido aos bons resultados obtidos, as melhores condições de bancada foram utilizadas em degradações em sistema operado com radiação solar em um reator do tipo cilíndrico parabólico composto (CPC).

Soluções aquosas dos estrogênios E1, E2 e EE2 ($20 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, 10 L) foram passadas a um fluxo de aproximadamente $0,5 \text{ mL min}^{-1}$, implicando em um tempo de residência de aproximadamente 0,6 min por reator. O reator foi operado em um modo de recirculação,

e as amostras foram coletadas após um ciclo completo de 3 minutos. Os resultados para ambos os catalisadores são mostrados na Figura 36.

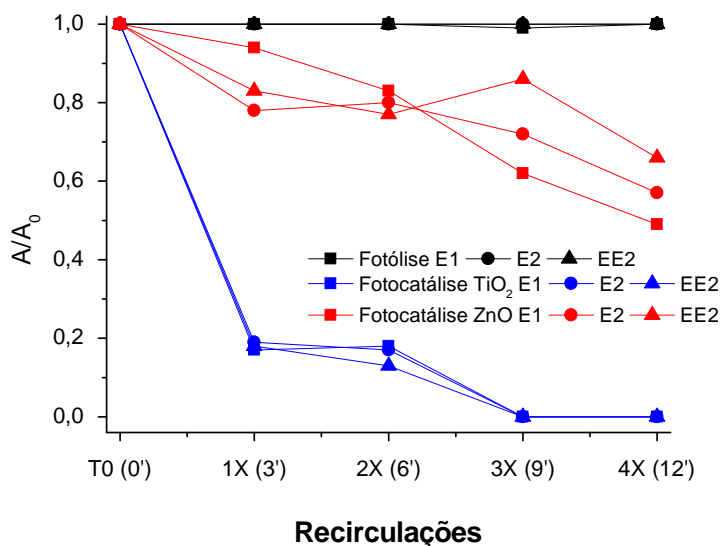


Figura 36. Remoção de E1, E2 e EE2 por recirculação em um reator solar CPC (estrogênios $20,0 \mu\text{g L}^{-1}$, 10 L; TiO_2 : 250 mg L^{-1} , ZnO : 750 mg L^{-1} , pH $\sim 7,0$).

A remoção por processos de fotólise é praticamente inexistente, o que é coerente com a baixa intensidade de radiação registrada, juntamente com o curto intervalo de tempo de exposição à radiação.

O uso de TiO_2 permitiu remoções de aproximadamente 90% da concentração inicial dos três hormônios por uma única recirculação através do reator, 3 minutos de exposição, com completa remoção a partir da terceira recirculação, 9 minutos de exposição.

Para o ZnO , remoções de aproximadamente 51%, 43% e 34% foram observadas após 4 recirculações, 12 minutos de exposição, para E1, E2 e EE2, respectivamente.

De um modo geral, para ambos os processos, mediados por TiO_2 e ZnO , o reator CPC permitiu um aumento significativo da capacidade de degradação em relação aos estudos realizados em escala de bancada, provavelmente devido ao melhor desempenho do sistema CPC, em função do elevado aproveitamento do fluxo fotônico incidente e da elevada eficiência quântica (MALATO *et al.*, 2009).

Em estudos de bancada para degradação de EE2 por radiação UVA, Frontistis *et al.* (2012) observaram forte influência do fluxo fotônico, o qual foi determinado actinometricamente usando o método ferrioxalato de potássio. Nas condições testadas, um fluxo fotônico da ordem de 10^{-4} einsten min^{-1} permitiu completa degradação em

tempos de 1 a 3 minutos. Além disso, a velocidade inicial de degradação diminuiu 2,5 e 18 vezes quando o fluxo fotônico foi da ordem de $4,6 \times 10^{-6}$ e $6,4 \times 10^{-7}$ einsten min^{-1} , respectivamente.

Mueses *et al.* (2013) desenvolveram um modelo baseado no rendimento quântico efetivo para avaliar a degradação fotocatalítica de contaminantes em baixa concentração por fotocatalise heterogênea empregando TiO_2 em reatores CPC em escala piloto. O conceito de rendimento quântico foi influenciado pelas propriedades do fotocatalisador, suas propriedades óticas e pelo fluxo fotônico.

Esses resultados mostram-se promissores para aplicação de reatores CPC na degradação de estrogênios presentes em matrizes aquosas, entretanto a remoção do catalisador ainda mostra-se como um fator de elevado custo para o processo, com poucos trabalhos na literatura empregando escala piloto.

5.2.5 Comentários sobre a degradação fotocatalítica de estrogênios na presença de radiação artificial e fotocatalisadores em suspensão

Processos fotocatalíticos fundamentados no uso de TiO_2 foram eficientes na degradação de todos os estrogênios em estudo, particularmente quando assistidos por radiação UVC. Neste caso, entretanto, grande parte da degradação é devida a processos de fotólise, processo favorecido pela elevada fotossensibilidade dos substratos.

Em processos assistidos por radiação UVA a fotólise perde significância, o que permite avaliar o real efeito da fotocatalise. Nestas condições, o TiO_2 permite uma eficiente degradação dos estrogênios, correspondendo praticamente ao dobro da capacidade mostrada pelo ZnO . Processos assistidos por radiação solar também proporcionaram elevada eficiência de degradação, particularmente na presença de TiO_2 .

A separação dos fotocatalisadores após o tratamento é bastante dificultada, não apenas em razão do usual pequeno tamanho de partícula, mas inclusive em função da retenção de estrogênios nos meios filtrantes. Deste ponto de vista, contar com um sistema de fotocatalisador imobilizado contribui com a instalação de sistemas de tratamento contínuo, operando em maior escala.

5.3 TRATAMENTO FOTOCATALÍTICO COM CATALISADOR IMOBILIZADO

5.3.1 Imobilização de TiO_2 e ZnO em alginato de cálcio

O alginato é um polímero natural extraído de algas marrons, com a peculiaridade de formar ligações cruzadas com cátions divalentes, tipicamente cálcio (Figura 37A), produzindo uma estrutura globular que permite o encapsulamento de diversas espécies químicas de interesse (Figura 37B).

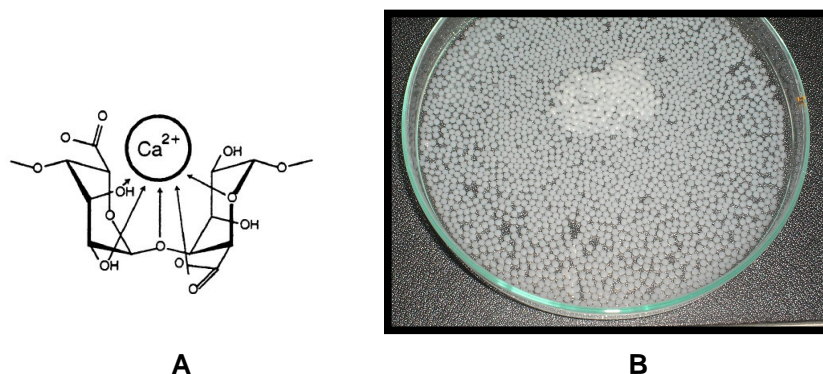


Figura 37. Esquema representativo da interação química entre cálcio (II) e alginato (A) e esferas de alginato de cálcio (B)

Produzidas de acordo com o procedimento descrito anteriormente (Item 4.3.3), foram obtidas esferas regulares com diâmetro médio entre 2 e 3 mm. As esferas contendo TiO_2 e ZnO foram caracterizadas por difração de raios-X e espectrometria de fluorescência de raios-X (resultados não apresentados), técnicas que permitiram confirmar a presença das fases cristalinas anatase e wurtzita, respectivamente, e teores de Ti e Zn da ordem de 0,5%.

Estudos de caracterização realizados por microscopia eletrônica de varredura permitiram observar uma superfície bastante irregular, com poros de diversas dimensões. Por sua vez, o mapeamento químico permitiu verificar uma homogênea distribuição de TiO_2 e ZnO por toda a superfície das esferas (Figura 38).

Devido a facilidade de monitoramento por espectroscopia UV-Vis, inicialmente o efeito das variáveis de relevância (pH e massa de semiconductor) na eficiência do processo de degradação foi avaliado utilizando-se trimetoprima (TMP) como substrato modelo. A influência de cada variável foi estudada entre dois limites, utilizando-se um sistema de planejamento fatorial de experimentos (2^2), o qual foi fundamentado no valor percentual de trimetoprima degradada após um tratamento de 60 min. Os ensaios foram realizados usando 250 mL de amostra, contendo 20 mg L^{-1} de trimetoprima. O efeito do pH foi estudado entre 4 e 8 e o efeito da massa das esferas contendo o semiconductor foi avaliado entre 2,0 e 6,0 g, com um ponto central (pH 6 e massa das esferas 4,0 g) realizado em triplicata para obtenção do desvio padrão dos ensaios.

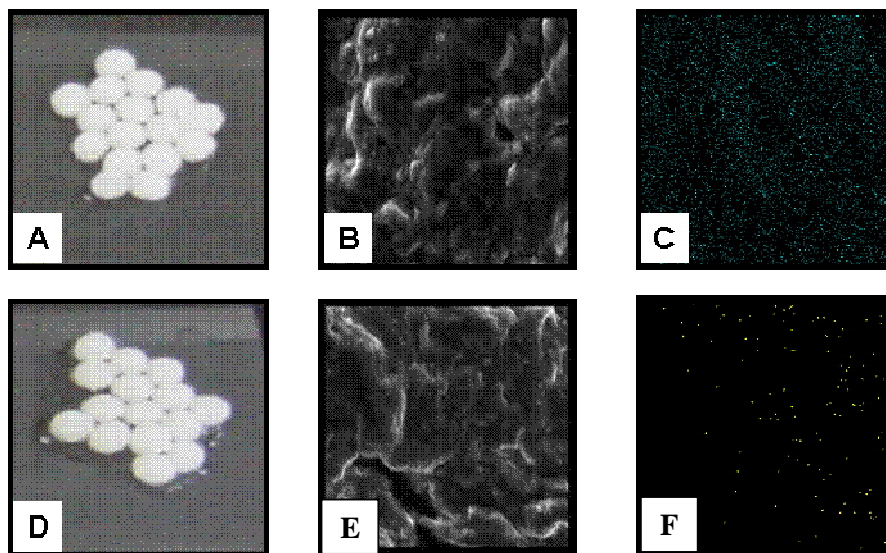


Figura 38. Imagens e mapeamento químico dos fotocatalisadores suportados (A: esferas de alginato/TiO₂, B: detalhe da superfície do alginato/TiO₂ (x2000), C: mapeamento químico de titânio nas esferas de alginato/TiO₂, D: esferas de alginato/ZnO, E: detalhe da superfície do alginato/ZnO (x2000), F: mapeamento químico de zinco nas esferas de alginato/ZnO).

A representação geométrica do planejamento fatorial (Figura 39) demonstra que a eficiência de degradação é favorecida em condições ácidas (pH= 4,0) e com o uso da menor massa de esferas contendo o fotocatalisador suportado (2,0 g de alginato/TiO₂), com diminuição de 70% da área espectral integrada. Por sua vez, esta representação evidencia a inexistência de um efeito combinado, em função da proximidade das diferenças introduzidas por cada variação.

Considerando-se estudos preliminares realizados em nosso grupo, envolvendo a degradação dos fármacos por fotocatálise com semicondutores em suspensão, onde a melhor eficiência de degradação para ambos os fotocatalisadores foi verificada em idênticas condições experimentais de pH e massa de fotocatalisador, os estudos envolvendo formas imobilizadas de TiO₂ e ZnO foram conduzidos em pH 4,0, utilizando-se 2,0 g de formas imobilizadas de fotocatalisador.

Nestas condições, a adsorção preliminar da TMP no material de suporte é negligenciável, principalmente levando-se em consideração as elevadas taxas de degradação observadas nos processos assistidos por radiação.

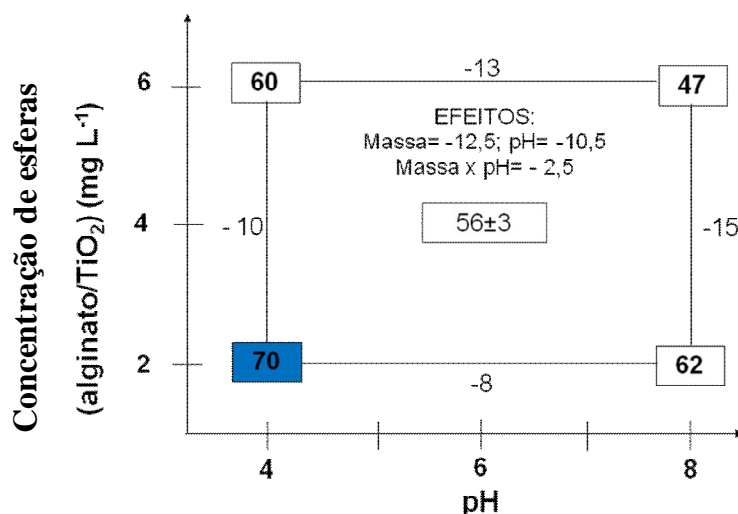


Figura 39. Representação geométrica do planejamento fatorial 2^2 utilizado para investigação do efeito das variáveis massa de TiO_2 e pH na degradação fotocatalítica de trimetoprima (trimetoprima: 20 mg L^{-1} , massa de TiO_2/g de esfera: 2,06 g, volume: 250 mL, tempo de reação: 60 min, Resposta: área espectral integrada entre 190 e 350 nm).

Na presença de radiação UVC, tanto TiO_2 como ZnO imobilizados em alginato de cálcio permitem uma rápida degradação de trimetoprima, o que faz com que o perfil espectral seja significativamente modificado em tempos de reação de 45 min. Adicionalmente, a permanência de sinais na região centrada entre 200 e 226 nm, mesmo na ausência de trimetoprima, confirma a formação de espécies transientes que mantêm o caráter aromático.

Nos processos assistidos por radiação UVA é possível observar significativas mudanças no perfil espectral nos primeiros 15 minutos de reação. A partir deste tempo, entretanto, a reação estabiliza, sem grandes modificações espectrais até tempos de reação de 60 min.

De acordo com a modificação dos valores de área espectral integrada (Figura 40), a degradação de trimetoprima por processos fotocatalíticos aplicados na presença de radiação UVC se processa rapidamente, o que se traduz em mineralização da ordem de 75% (TiO_2) e 60% (ZnO), em tratamentos de 60 min. Entretanto, nestas condições o processo de fotólise contribui de maneira significativa com a degradação do substrato, o que demonstra a sua elevada fotossensibilidade.

Na presença de radiação de menor energia (UVA), o processo de fotólise perde importância, ao mesmo tempo em que a fotocatalise mediada por TiO_2 diminui significativamente a sua eficiência de degradação e a fotocatalise mediada por ZnO não induz nenhuma degradação apreciável.

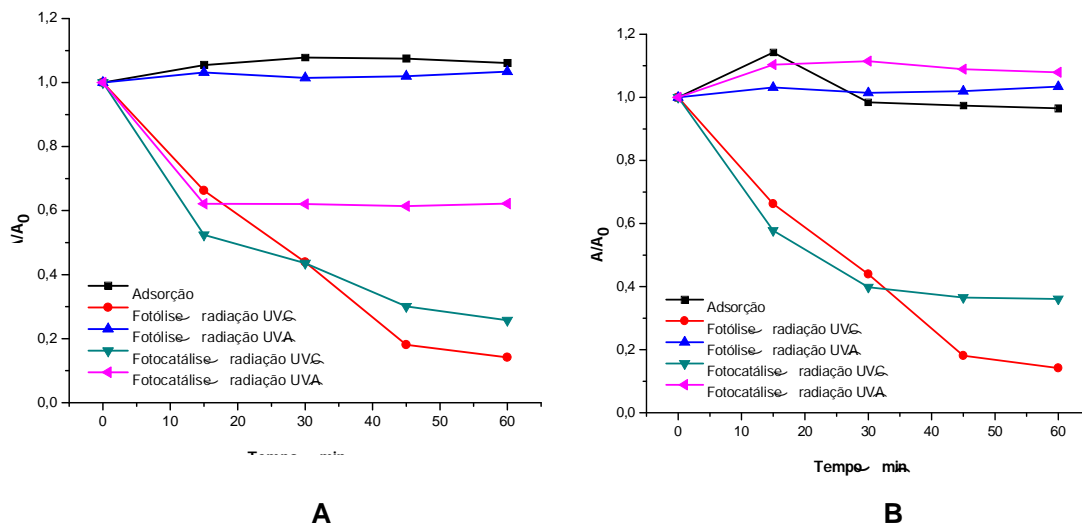


Figura 40. Modificação da área espectral (A/A_0) de Trimetoprima (10 mg L^{-1}) durante a adsorção, fotólise e degradação fotocatalítica mediada por TiO_2 (A) e ZnO (B) imobilizados em alginato de cálcio utilizando-se radiação UVC e UVA.

Em função destes resultados, é possível admitir que o encapsulamento dos semicondutores na matriz de alginato desfavorece o efetivo contato entre o fotocatalisador e o substrato, o que dificulta a ocorrência de processos fotocatalíticos. Desta forma, em processos assistidos por radiação UV-C, grande parte da degradação observada é devida a processos de fotólise, dada a elevada fotossensibilidade deste tipo de substrato. Por outro lado, o uso de radiação UV-A diminui o efeito do processo de fotólise, mas praticamente inibe a degradação fotocatalítica dos substratos de interesse em presença de ZnO .

Por estes motivos, não foi dada continuidade aos estudos de degradação envolvendo formas imobilizadas em alginato, dando-se preferência ao TiO_2 imobilizado em anéis de vidro, material de eficiência já comprovada.

5.3.2 Imobilização de TiO_2 em anéis de vidro

Inicialmente, o material foi caracterizado por técnicas difração de raios-X, não se observando estruturas cristalinas, em razão da natureza amorfa do suporte. A presença de TiO_2 na sua forma anatase foi demonstrada por espectroscopia Raman (Figura 41), a qual permite observar a presença de bandas em 396 , 514 e 636 cm^{-1} , atribuídos respectivamente aos modos B_{1g} , $A_{1g} + B_{1g}$ e E_g , todos representativos da fase anatase do TiO_2 (SCHNITZLER, 2003).

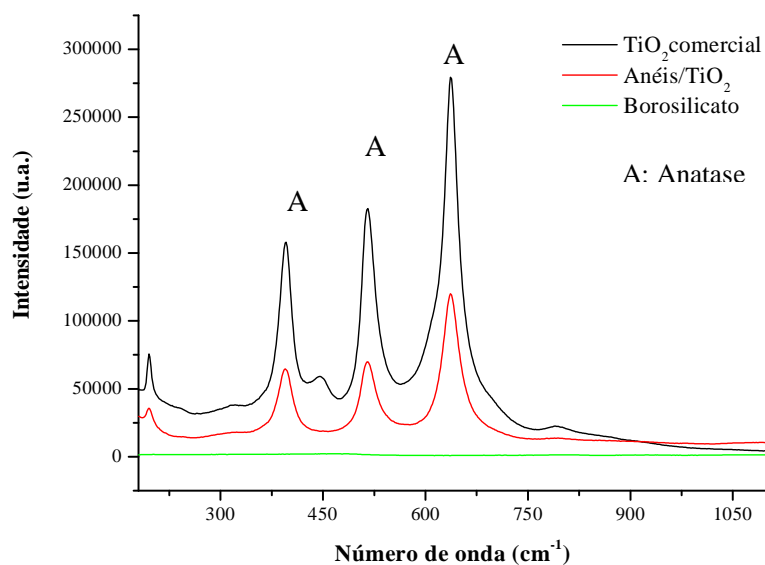


Figura 41. Espectro Raman dos anéis vidro/ TiO_2

Adicionalmente, estudos de caracterização realizados por microscopia eletrônica demonstraram uma superfície porosa (Figura 42B) e uma homogênea distribuição do TiO_2 na superfície do vidro (Figura 42C).

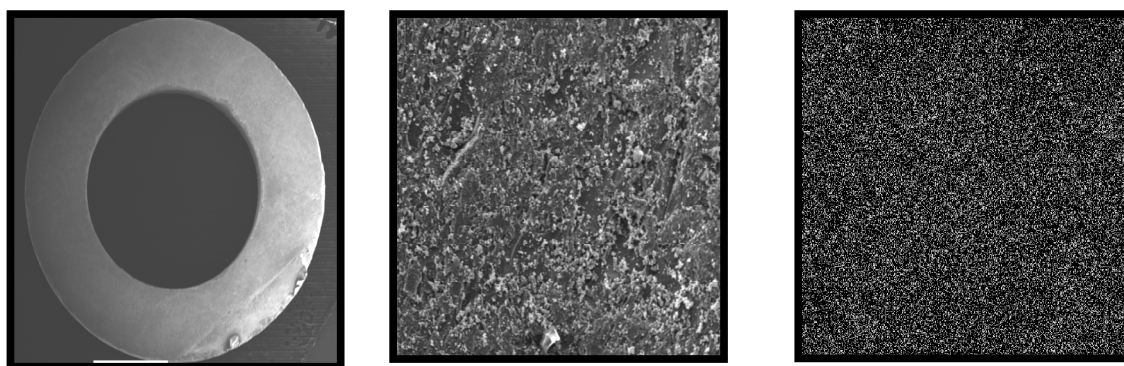


Figura 42. Anel de vidro modificado com TiO_2 , com \varnothing_{int} 5 mm = , \varnothing_{ext} = 8 mm e espessura de aproximadamente 2 mm (A), imagem da superfície (x 250, B) e mapeamento químico de Titânio sobre a superfície do anel de vidro (C).

Estudos de degradação de E1, E2 e EE2 foram realizados em pH 7,0-7,5, utilizando-se 150 mL de solução e anéis de vidro em quantidade suficiente para completo preenchimento do reator. O processo fotocatalítico foi aplicado por tempos de até 60 min, na presença de radiação UVA e borbulhamento contínuo de ar atmosférico, com ajuda de uma bomba de aquário.

Os resultados deste ensaio (Figura 43) demonstram degradações médias de aproximadamente 98% para todos os estrogênios em estudo e remoção por adsorção praticamente negligenciáveis, no tempo de exposição de 60 min.

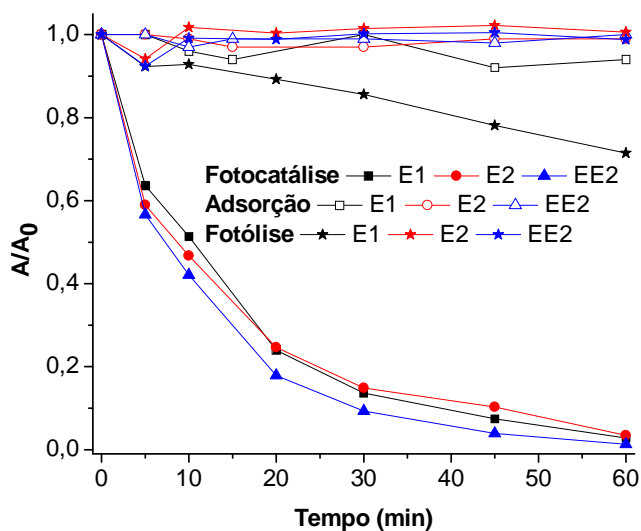


Figura 43. Degradação dos estrogênios E1, E2 e EE2 utilizando TiO_2 imobilizado em anéis de vidro, na presença de luz UVA e borbulhamento com ar atmosférico. (Solução em concentração de $20,0 \mu\text{g L}^{-1}$, volume: 150 mL, pH: 7,3.)

A menor eficiência cinética do catalisador imobilizado, em relação à forma livre, pode ser atribuída à menor superfície de contato do TiO_2 quando na forma suportada, tal como observado em outros trabalhos de natureza similar.

A degradação fotocatalítica de 17β -estradiol utilizando TiO_2 imobilizado em uma liga de titânio foi estudada por Coleman *et al.* (2000). Neste trabalho 98% da carga inicial do estrogênio foi degradada em 3,5 horas de tratamento. Utilizando um reator de quartzo revestido com um filme fino de TiO_2 , Tanizaki *et al.* (2002) estudaram a degradação fotocatalítica de estrona (E1), 17β -estradiol (E2) e 17α -etinilestradiol (EE2), observando degradações de 90% para E2 em 120 min de tratamento. A degradação de E1 e EE2 se deu de forma mais favorável, alcançando valores de 90% em apenas 30 min de tratamento.

Nakashima *et al.* (2002) suportaram TiO_2 em “folhas” de teflon, que funcionaram como pás para agitação da solução. Neste caso a concentração de E2 foi reduzida em 98% após uma hora de irradiação, com importante contribuição do processo de adsorção (85%).

Levando-se em consideração que os processos de degradação por fotólise são praticamente inibidos nas condições de trabalho (radiação UV-A) e, ainda, a escassa remoção de estrogênios por adsorção no suporte, a degradação observada se mostra bastante promissora, ainda mais considerando-se que a forma suportada exclui a necessidade de remoção posterior do catalisador.

Nesse sentido, o uso da forma imobilizada de TiO_2 permite o desenvolvimento de um sistema de tratamento contínuo, orientado ao tratamento de maiores volumes de amostra. Esses estudos, empregando reatores em fluxo, estão em andamento.

5.3.3 Comentários sobre a degradação fotocatalítica de estrogênios na presença de radiação artificial e fotocatalisadores suportados

De acordo com os resultados deste trabalho, o encapsulamento de fotocatalisadores em esferas de alginato de cálcio dificulta o efetivo contato entre fotocatalisador e substrato, o que faz com que o processo fotocatalítico seja praticamente anulado em presença de alginato/ ZnO . Por outro lado, a imobilização em anéis de vidro se mostrou mais conveniente, permitindo a manutenção de grande parte da capacidade de degradação do TiO_2 .

De maneira geral, foi observado que o uso de formas imobilizadas de fotocatalisador permite uma menor eficiência de degradação, principalmente em função da significativa redução de área superficial em relação aos sistemas em suspensão.

5.4 TRATAMENTO DE ESTROGÊNIOS POR PROCESSOS FENTON

5.4.1 Sistema Fenton homogêneo sob luz artificial

Processos Fenton em fase homogênea têm sido bastante utilizados pelo grupo, em estudos envolvendo a degradação de inúmeros poluentes ambientais de relevância. De maneira geral, foi constatado que as melhores condições de degradação independem da natureza química e da concentração do poluente, o que faz com que, salvo raras exceções, elevada capacidade de degradação seja observada em pH 3, utilizando-se 15 mg L^{-1} de Fe^{2+} e 150 mg L^{-1} de H_2O_2 .

Aplicando-se o processo Fenton nestas condições foram observadas remoções da ordem de 50% dos estrogênios em estudo (E1, E2 e EE2; $20 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$), em 60 minutos de tratamento (Figura 44). O monitoramento de formas ferrosas e férricas (Figura 45A)

permitiu verificar uma rápida redução na concentração de Fe^{2+} nos primeiros 5 min de reação, e manutenção de concentrações residuais da ordem de 9 mg L^{-1} até o final do processo (60 min). Por sua vez, o consumo de H_2O_2 , que é pequeno nos primeiros 5 min, praticamente cessa a partir deste tempo de reação (Figura 45B), o que explica a manutenção de elevadas concentrações de ferro ferroso e a baixa capacidade de degradação do sistema.

Na presença de radiação UVA (processo foto-Fenton), a capacidade de degradação dos sistemas Fenton costuma ser significativamente melhorada, em razão da ocorrência de reações fotoquímicas que permitem a regeneração das formas ferrosas e a concomitante geração de mais um equivalente de radical hidroxila. Neste caso, a degradação dos estrogênios se processa rapidamente, alcançando remoção praticamente completa em 15 min de tratamento (Figura 44). O monitoramento de H_2O_2 e de formas ferrosas e férricas (Figura 46) permitiu corroborar a regeneração de íons ferrosos a partir de 5 min de reação, assim como um consumo praticamente completo do peróxido em 10 min de tratamento.

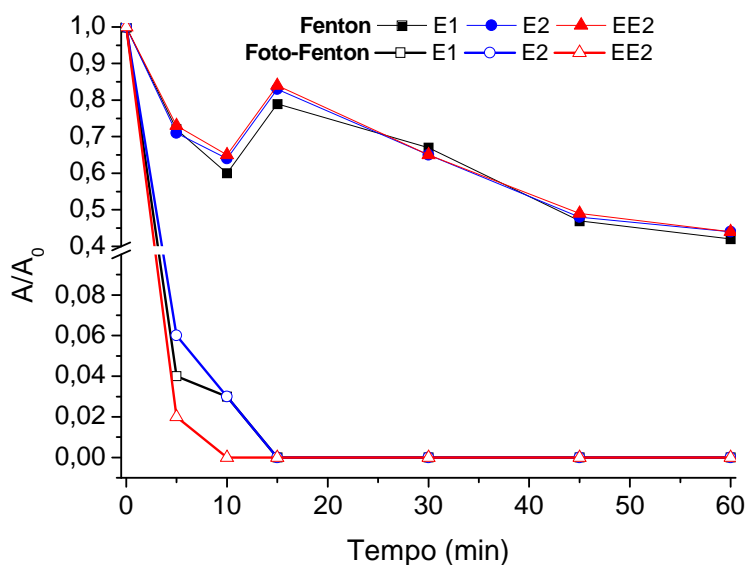


Figura 44. Remoção dos estrogênios E1, E2 e EE2 ($20,0 \text{ µg L}^{-1}$) por processos Fenton e foto-Fenton ($\text{pH } 3,0$, 15 mg L^{-1} de Fe^{2+} , 150 mg L^{-1} de H_2O_2).

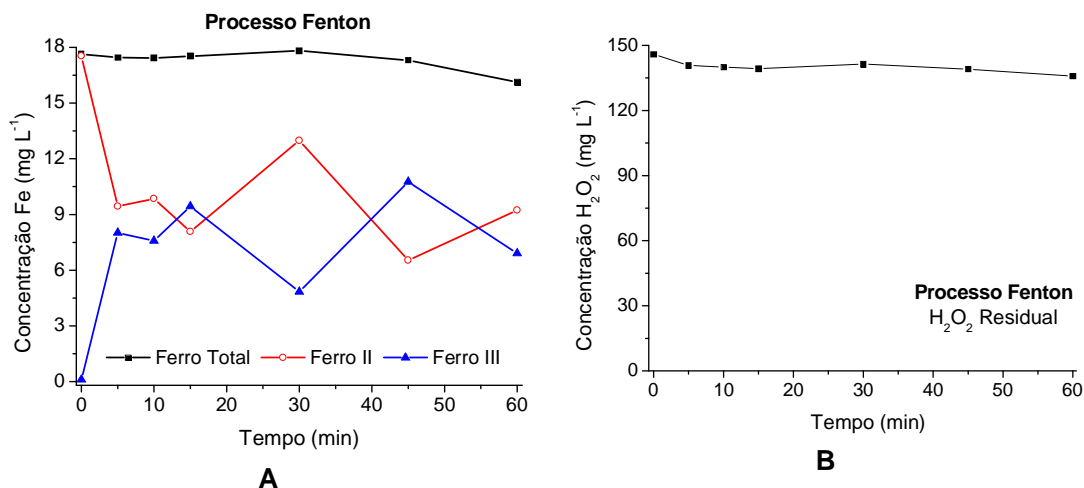


Figura 45. Acompanhamento da concentração de formas ferrosas e férricas (A) e de H_2O_2 (B) durante a degradação de E1, E2 e EE2 por processos Fenton.

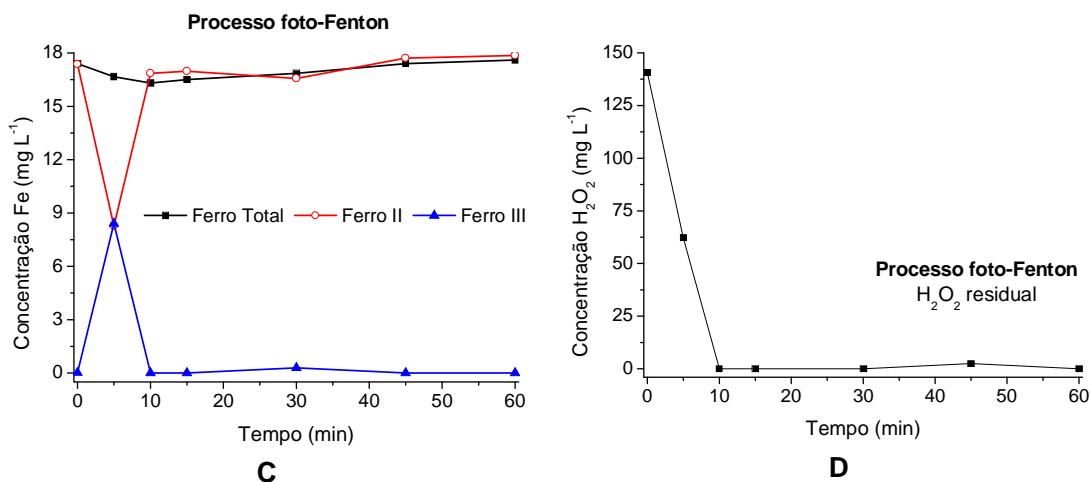


Figura 46. Acompanhamento da concentração de formas ferrosas e férricas (A) e de H_2O_2 (B) durante a degradação de E1, E2 e EE2 por processos foto-Fenton.

Estudos de degradação de estrogênios (E1, E2, EE2) em solução aquosa foram realizados por Feng *et al.* (2005a, 2005b), verificando-se uma degradação lenta dos substratos (75% a 99% em 160 minutos de tratamento) e mineralizações da ordem de 25%. Entretanto, nestes estudos foram utilizadas baixas concentrações de Fe^{2+} ($2,3 \text{ mg L}^{-1}$) e de H_2O_2 (57 mg L^{-1}), assim como elevadas concentrações dos estrogênios ($2,5 \text{ mg L}^{-1}$), o que, de acordo com a própria opinião dos autores, contribuiu com a baixa eficiência de degradação observada.

Resultados mais próximos aos relatados neste trabalho foram apresentados recentemente por Frontistis *et al.* (2011), em estudos envolvendo a degradação de EE2 ($200 \mu\text{g L}^{-1}$) em amostras fortificadas de esgoto, utilizando-se luz solar simulada. Neste caso, a remoção completa do estrogênio foi observada em 15 min de reação.

Estes resultados demonstram que o processo Fenton na sua forma foto-assistida apresenta ótimas condições para fazer parte de uma rotina de tratamento em grande escala, principalmente em função da clara possibilidade de se utilizar radiação solar.

5.4.2 Sistema Fenton homogêneo sob luz solar

Em razão dos resultados obtidos em escala de bancada sob luz UVA e de relatos da literatura que demonstram uma elevada capacidade de degradação dos processos foto-Fenton assistidos por luz solar (RADJENOVIC *et al.*, 2009; FRONTISTIS *et al.*, 2011), estudos de degradação foram realizados em fase homogênea, utilizando-se reatores de bancada assistidos por radiação solar.

Os ensaios foram realizados nas mesmas condições empregadas nos processos homogêneos sob luz artificial (15 mg L^{-1} de Fe^{2+} , 150 mg L^{-1} de H_2O_2 e pH 3,0), utilizando-se a mistura dos estrogênios E1, E2 e EE2 em concentração de $20,0 \mu\text{g L}^{-1}$. Após exposição à luz solar por tempos de até 60 min, amostras foram filtradas em filtro de fibra de vidro de $0,60 \mu\text{m}$ e submetidas à rotina de determinação por HPLC-DAD-Flu.

Nestas condições foram alcançadas degradações entre 50 e 80% para os três estrogênios em estudo (E1, E2 e EE2), com um claro desfavorecimento do processo a partir de 15 min de tratamento (Figura 47). Nestes primeiros 15 min de reação o H_2O_2 é quase completamente consumido, o que desfavorece o processo Fenton, mesmo na presença de elevadas concentrações de íon ferroso (Figura 48). Em função deste comportamento, uma nova adição de H_2O_2 (150 mg L^{-1}) foi realizada em 30 min, o que favoreceu a reação por mais 15 min.

Em relação às formas ferrosas presentes na solução, a ausência do peróxido também pode ser notada, porém ocorreu de forma mais branda. Inicialmente, o Fe^{2+} foi oxidado a Fe^{3+} , sendo quase que completamente convertido a Fe^{2+} entre 15 min e 30 min, período em que a reação diminuiu sua velocidade por falta de peróxido. Após a nova adição de peróxido, o Fe^{2+} voltou a ser consumido, porém agora já em menor velocidade, com um aumento proporcional na concentração de Fe^{3+} . Sob nova ausência de peróxido, 45 minutos, ocorreu um leve aumento na concentração dos íons ferrosos e uma diminuição dos íons férricos em solução.

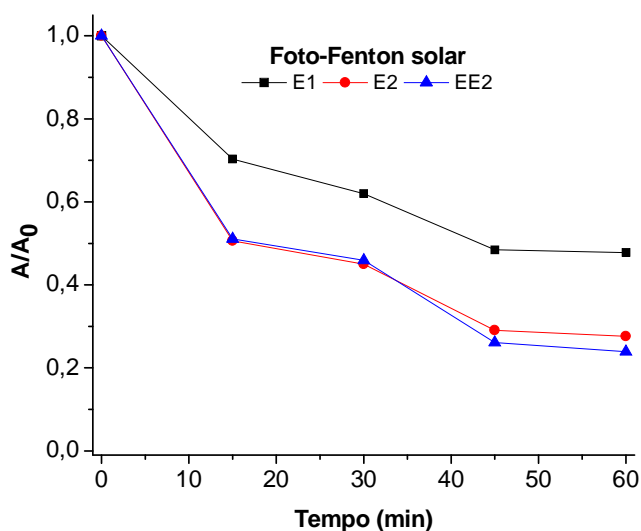


Figura 47. Remoção dos estrogênios E1, E2 e EE2, $20,0 \mu\text{g L}^{-1}$, por processos foto-Fenton em reator solar parabólico. 210 mL de solução. (Condições iniciais: 15 mg L^{-1} de Fe^{2+} , 150 mg L^{-1} de H_2O_2 e pH 3,0).

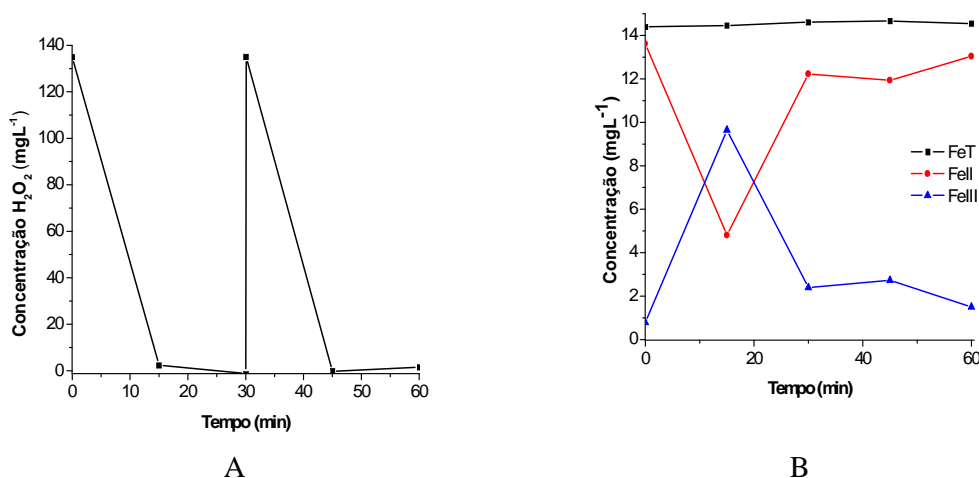


Figura 48. Acompanhamento da concentração de (A) H_2O_2 e de (B) formas ferrosas e férricas durante a degradação de E1, E2 e EE2, $20,0 \mu\text{g L}^{-1}$, por processos foto-Fenton em reator solar parabólico. (Condições iniciais: 15 mg L^{-1} de Fe^{2+} , 150 mg L^{-1} de H_2O_2 e pH 3,0).

Os resultados mostraram que o processo sob luz solar ocorreu de forma mais lenta que sob luz UVA artificial (Figura 44), ao contrário das observações constantes na literatura (GERNJAK *et al.*, 2003). Referida discrepância deve estar associada ao baixo aproveitamento de fótons no reator utilizado neste trabalho, quando comparado a

concentradores parabólicos melhor fabricados.

Ensaio usando radiação solar também foram desenvolvidos em um reator tipo CPC, utilizando-se 10 L de solução aquosa contendo a mistura dos estrogênios E1, E2 e EE2 em concentração de $20,0 \mu\text{g L}^{-1}$. O tratamento consistiu de duas etapas: na primeira, as amostras foram submetidas a processos Fenton (sem luz) por 30 min. Na segunda, as amostras foram passadas pelo reator CPC com vazão de $0,5 \text{ L min}^{-1}$, o que representou um tempo de exposição de cerca de 3 min por ciclo de tratamento.

Nestas condições, a degradação dos estrogênios por processos de fotólise foi praticamente inexistente, o que é coerente com a baixa intensidade de radiação UVC registrada ($32,5 \mu\text{W cm}^{-2}$).

Aproximadamente 45% de degradação dos compostos foi alcançada nos primeiros 30 minutos de reação, na ausência de luz (Figura 49), o que é similar ao observado nos estudos em escala de bancada (Figura 44). Na presença de luz, os estrogênios foram quase completamente degradados após o quarto ciclo de tratamento, o que implicou em um tempo de reação de 12 minutos.

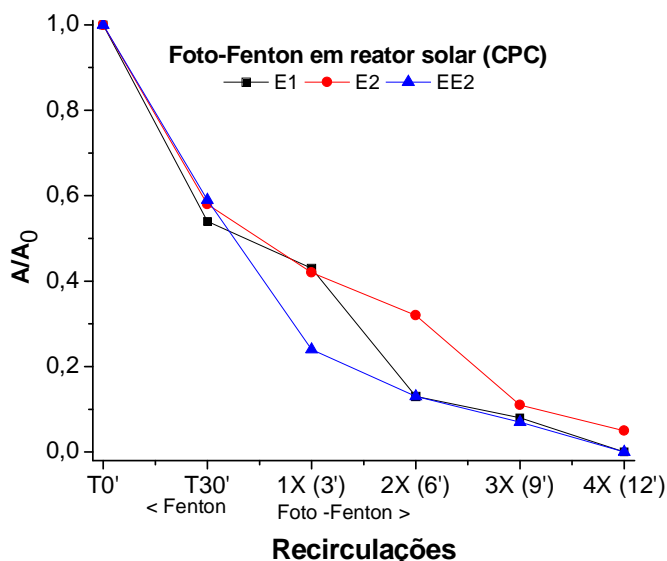


Figura 49. Remoção dos estrogênios E1, E2 e EE2, $20,0 \mu\text{g L}^{-1}$, por processos foto-Fenton em reator solar (CPC). 10L de solução. Vazão: $0,5 \text{ L min}^{-1}$. (Condições iniciais: 15 mg L^{-1} de Fe^{2+} , 150 mg L^{-1} de H_2O_2 e pH 3,0).

O monitoramento das formas ferrossas (Figura 50A) mostrou um pequeno consumo dos íons ferrosos nos primeiros 30 minutos, sem, no entanto, ser observado um aumento na concentração dos íons férricos. Nos processos irradiados, entretanto, um equilíbrio entre as formas férricas e ferrossas permitiu concentrações residuais de Fe^{2+} entre 5 e 8 mg L^{-1} , durante todo o processo. Por outro lado, a diminuição observada no teor de ferro total pode ser devida à precipitação de formas férricas ou a sua complexação com ácidos carboxílicos produzidos durante o tratamento (ZAPATA *et al.*, 2010; FRONTISTIS *et al.*, 2011).

Ainda, observa-se um baixo consumo de peróxido de hidrogênio (Figura 50B), o que é coerente com o baixo consumo registrado em processos Fenton e com o reduzido tempo de irradiação a que as amostras foram submetidas.

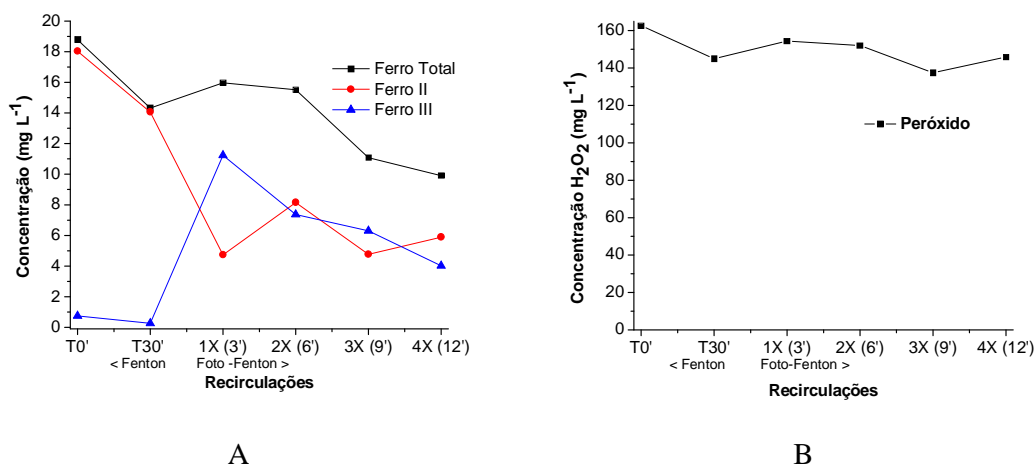


Figura 50. Acompanhamento da concentração de (A) formas ferrosas e férricas e de (B) H_2O_2 durante a degradação de E1, E2 e EE2, $20,0 \mu\text{g L}^{-1}$, por processos foto-Fenton em reator solar CPC. 10L de solução. Vazão: $0,5 \text{ L min}^{-1}$. (Condições iniciais: 15 mg L^{-1} de Fe^{2+} , 150 mg L^{-1} de H_2O_2 e pH 3,0).

Estes resultados estão de acordo com antecedentes da literatura, que demonstram a elevada eficiência de degradação dos processos Fenton assistidos por luz solar simulada na degradação de EE2 ($200 \mu\text{g L}^{-1}$), até em amostras fortificadas de esgoto (FRONTISTIS *et al.*, 2011). Neste estudo, a completa remoção do estrogênio foi constatada em 15 min de tratamento, observando-se, porém, 50% de mineralização do carbono orgânico dissolvido, mesmo após tratamentos de 180 min.

Em relação à alternância entre processos Fenton e foto-Fenton ocorrida em nossos estudos pouca informação encontra-se disponível na literatura. Estudos realizados por Herrera *et al.* (1998) demonstraram que a alternância de processos Fenton e foto-Fenton pode gerar subprodutos que auxiliam no processo final de degradação.

Alternando processos Fenton e foto-Fenton, Gernjak *et al.* (2006) demonstraram haver completa degradação e mineralização do herbicida alachlor, com mineralização entre 85-95% do carbono orgânico dissolvido, com redução do tempo de exposição à luz nos processos foto-Fenton quando esses são combinados com processos Fenton. Entretanto, estudos realizados por Vilar *et al.* (2012) em reator solar CPC mostraram que a alternância entre processos Fenton e foto-Fenton não contribuiu para a oxidação de lixiviados de aterro sanitário.

De modo geral, os resultados mostram que na sua forma foto-assistida, o processo Fenton apresenta ótimas condições para fazer parte de uma rotina de tratamento em grande escala, principalmente em função da clara possibilidade de se utilizar radiação solar. Além disso, as degradações para os estrogênios E1, E2 e EE2 ocorreram em curto intervalo de tempo, o que se mostra semelhante ao observado nos estudos de degradação por fotocatalise com TiO_2 .

Nos processos Fenton, entretanto, uma séria limitação operacional resulta da necessidade de se manter condições ácidas (pH 3), de maneira a evitar a precipitação das formas férricas geradas no decorrer do processo (MALATO *et al.*, 2009). Para contornar estes inconvenientes, formas imobilizadas de ferro têm sido propostas, incluindo formas ferrosas, férricas e, inclusive, óxidos férricos. Além de aumentar a faixa operacional de pH, o uso de catalisadores suportados permite o reuso dos materiais (HE *et al.*, 2002; SOON e HAMEED, 2011), o que se mostra relevante para o desenvolvimento de sistemas de tratamento em grande escala.

5.4.3 Sistema Fenton heterogêneo

5.4.3.1 Preparo e caracterização do fotocatalisador

A quitosana é uma forma polimérica natural, obtida a partir da reação de desacetilação parcial da quitina (Figura 51), considerada como o principal constituinte do exoesqueleto de crustáceos aquáticos (FIORI, 1996). O processo de desacetilação (Figura 51) envolve a remoção dos grupos acetil da cadeia molecular da quitina, resultando em grupos amino livres ($-\text{NH}_2$), por meio da reação de hidrólise alcalina em altas temperaturas (ABDEL-FATTAH ET AL., 2007).

Estruturalmente, a quitosana é formada pelos copolímeros β -(1 \rightarrow 4)-2-amino 2-desoxi-D-glicose e β -(1 \rightarrow 4)-2-acetamida 2-desoxi-D-glicose, com a presença de grupos

amino e grupos hidroxila primários e secundários que podem ser quimicamente modificados (GEORGE E ABRAHAM, 2006).

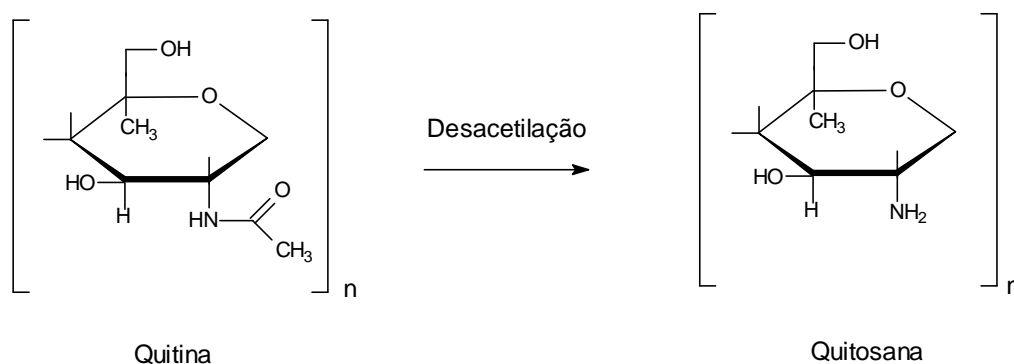


Figura 51. Esquema representativo de obtenção da quitosana através da reação da desacetilação da quitina

(Fonte: Souza, 2009).

A quitosana tem alto potencial para adsorção de íons metálicos, corantes e proteínas. Adicionalmente se mostra atóxica, hidrofílica, biocompatível e bactericida, características estas que tem propiciado inúmeras aplicações de relevância, com destaque para o tratamento de água, produção de cosméticos, de medicamentos, de aditivos alimentícios e na preparação de membranas semipermeáveis e no desenvolvimento de biomateriais (MACEDO *et al.*, 2004). Recentemente, o seu uso como suporte de formas férricas passíveis de utilização em processos Fenton foi demonstrada, com excelentes resultados na degradação de corantes têxteis (SOUZA, 2009).

Empregando o método de preparo descrito em 4.3.7 (p. 63) foram obtidas esferas de quitosana de aproximadamente 2 a 3 mm de diâmetro, contendo ferro adsorvido. Estudos de caracterização realizados por difração de raios-X (Figura 52) sugerem a presença de goethita (FeO(OH)), o que se justifica, em função, da imobilização de formas ferrosas ter sido realizada na presença de oxigênio dissolvido e sem um rigoroso controle de pH.

O sinal característico da quitosana reticulada (2 θ : 20°, XU *et al.*, 2005; SOUZA *et al.*, 2010) é significativamente modificado com a inclusão de ferro, o que, de maneira geral, implica em também significativa redução da sua cristalinidade. É importante observar que após 7 ciclos de uso os sinais da forma cristalina do óxido férrico desaparecem, provavelmente dando lugar a uma espécie amorfa.

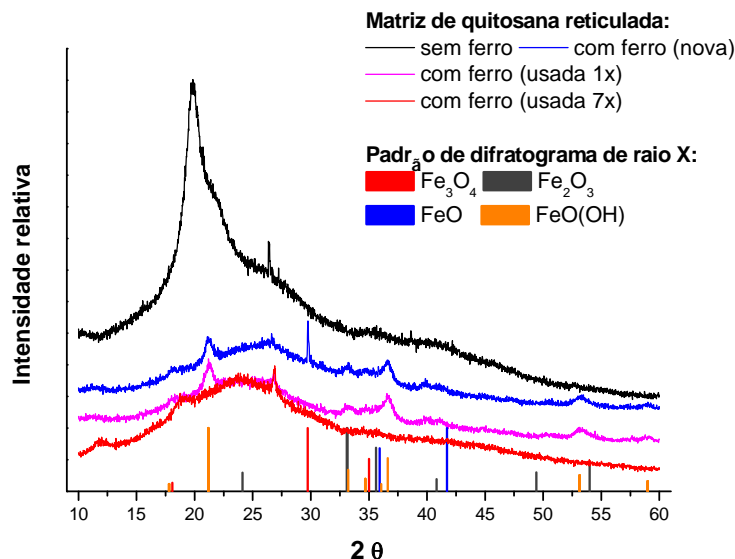


Figura 52. Difratogramas de Raios-X das esferas de quitosana reticuladas com glutaraldeído sob diferentes situações de uso e padrões de difração para diferentes formas cristalinas de ferro.

A presença de ferro na forma de goethita (Fe^{3+}) se mostra interessante, em razão de referido óxido apresentar propriedades fotocatalíticas em comprimentos de onda entre 310 e 500 nm (ORTIZ DE LA PLATA *et al.*, 2008), o que sugere aplicabilidade em processos assistidos por radiação solar. Adicionalmente, vários trabalhos têm relatado a degradação de compostos orgânicos persistentes por processos foto-Fenton heterogêneos envolvendo o uso de goethita, com resultados bastante promissores (HE *et al.*, 2005; ZHAO e HU, 2008, ZHAO *et al.*, 2008; LAN *et al.*, 2010; ZHAO *et al.*, 2010a, 2010b; MOLINA *et al.*, 2012).

Análises realizadas por espectroscopia paramagnética eletrônica (EPR) (Figura 53) confirmam a presença de ferro na matriz de quitosana (banda larga centrada em aproximadamente 3000 G) e a inclusão de ferro em domínios diluídos pelo processo de imobilização (banda larga entre 1500 e 2000 G). O estreitamento deste sinal com o uso do material sugere modificação da forma férrica, enquanto que o surgimento de uma banda estreita na região de 3500 G sugere a presença de radical livre em matéria orgânica, provavelmente decorrente de alterações na matriz de quitosana.

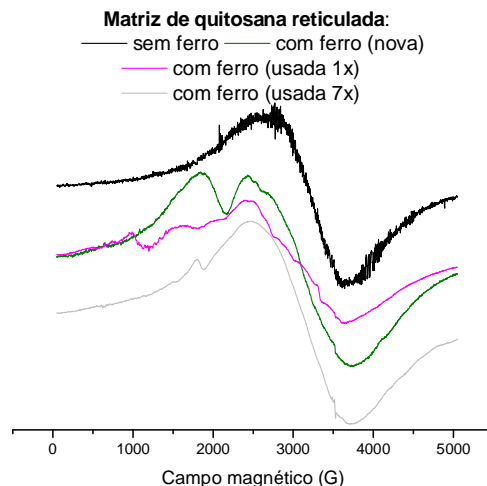


Figura 53. Espectros de EPR das esferas de quitosana/ferro, obtidos a temperatura ambiente, sob diferentes situações de uso.

A concentração de ferro na matriz de quitosana e nas esferas de quitosana/ferro foi medida por espectrometria de emissão ótica com fonte de plasma indutivamente acoplado, após dissolução dos materiais sólidos em ácido nítrico concentrado. Nesta avaliação foi constatada um teor de cerca de 34 mg g^{-1} de ferro na matriz de quitosana e da ordem de 170 mg g^{-1} após a incorporação de ferro (Tabela 22). Além disso, na análise de catalisadores submetidos a vários ciclos de tratamento foram encontradas concentrações bastante similares, o que, em primeira análise, sugere a ocorrência de processos Fenton heterogêneos.

Tabela 22. Teor de ferro na matriz de quitosana e nas esferas de quitosana modificada com ferro após ciclos de uso.

Amostra	Massa de ferro (mg/g amostra seca)	Massa de ferro (mg/10 g de esfera úmida)
Quitosana pura	33,80	-
Quitosana/ferro (usada uma vez)	168,92	115,63
Quitosana/ferro (usada 7 vezes)	167,03	116,71

Segundo Zhao e Hu. (2008), a quantidade de ferro presente no catalisador é um dos fatores mais importantes na fotoatividade dos catalisadores suportados. Por outro lado, é bastante comum que processos Fenton heterogêneos sejam aplicados na presença de fotocatalisadores contendo entre 9 e 12% de ferro (DEMARCO *et al.*, 2003; ZHAO e HU, 2008, ZHAO *et al.*, 2008, 2010a, 2010b), embora atividade fotocatalítica seja

observada em concentrações de até 2% (ZHAO e HU, 2008).

Medidas por fluorescência de raios-X de energia dispersiva (Tabela 23) demonstraram que o ferro depositado na quitosana concentrou-se principalmente na parte interna das esferas, sem alteração significativa de concentração de ferro na superfície externa.

Tabela 23. Teor de ferro (% m/m) medido em regiões externas e internas das esferas de quitosana

Superfície analisada	Quitosana sem ferro	Quitosana com ferro (usada 1x)	Quitosana com ferro (usada 4x)
Superfície interna	0,13±0,07	0,86±0,12	0,70±0,10
Superfície externa	0,27±0,10	0,21±0,08	0,13±0,07

Juntamente com imagens da quitosana reticulada, antes e após deposição de ferro, são mostradas imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) da superfície interna e externa das esferas, com aumento de 5000 vezes (Figura 54). As imagens de MEV permitiram observar uma superfície bastante irregular, com poros de diversas dimensões, porém, não foram observadas estruturas cristalinas de goethita na superfície do suporte. Esses resultados estão de acordo com as análises de EPR, que demonstram a inserção de ferro em domínios diluídos.

Diferentemente dos nossos resultados, estudos de caracterização de um catalisador goethita-resina catiônica realizados por Zhao *et al.* (2008a, 2008b, 2010a) demonstraram o recobrimento da superfície da resina por cristais de goethita.

Por sua vez, imagens de mapeamento químico mostraram maior quantidade de ferro no interior das esferas do que na sua superfície (Figura 55), confirmando os resultados obtidos por fluorescência de raios-X de energia dispersiva.

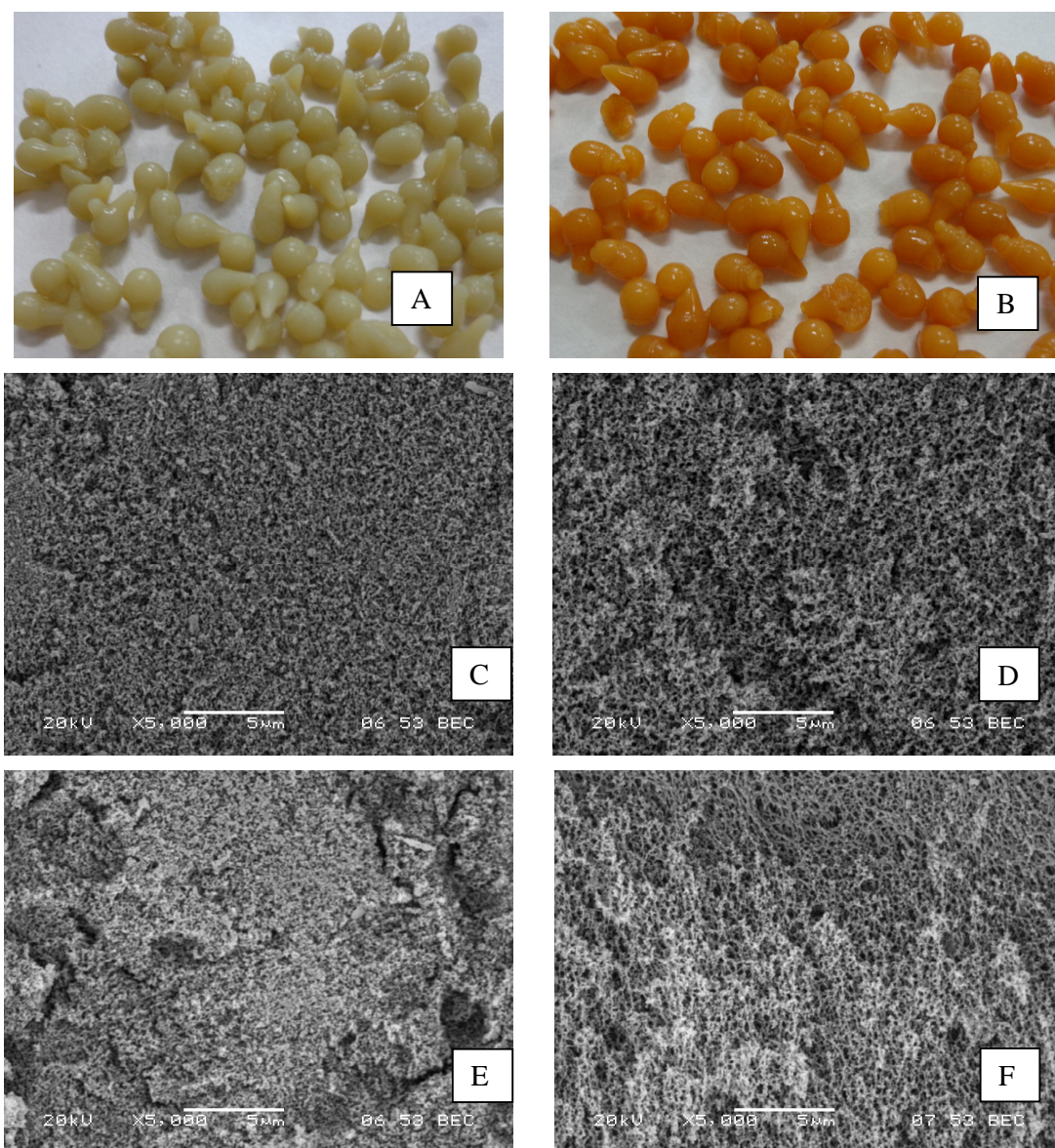


Figura 54. Imagens das esferas de quitosana (A) antes da adsorção de ferro; (B) depois da adsorção de ferro; (C) MEV da superfície externa e (D) interna, da quitosana sem adsorção de ferro, com aumento de 5000x; (E) MEV da superfície externa e (F) interna, da quitosana com ferro adsorvido, com aumento de 5000x.

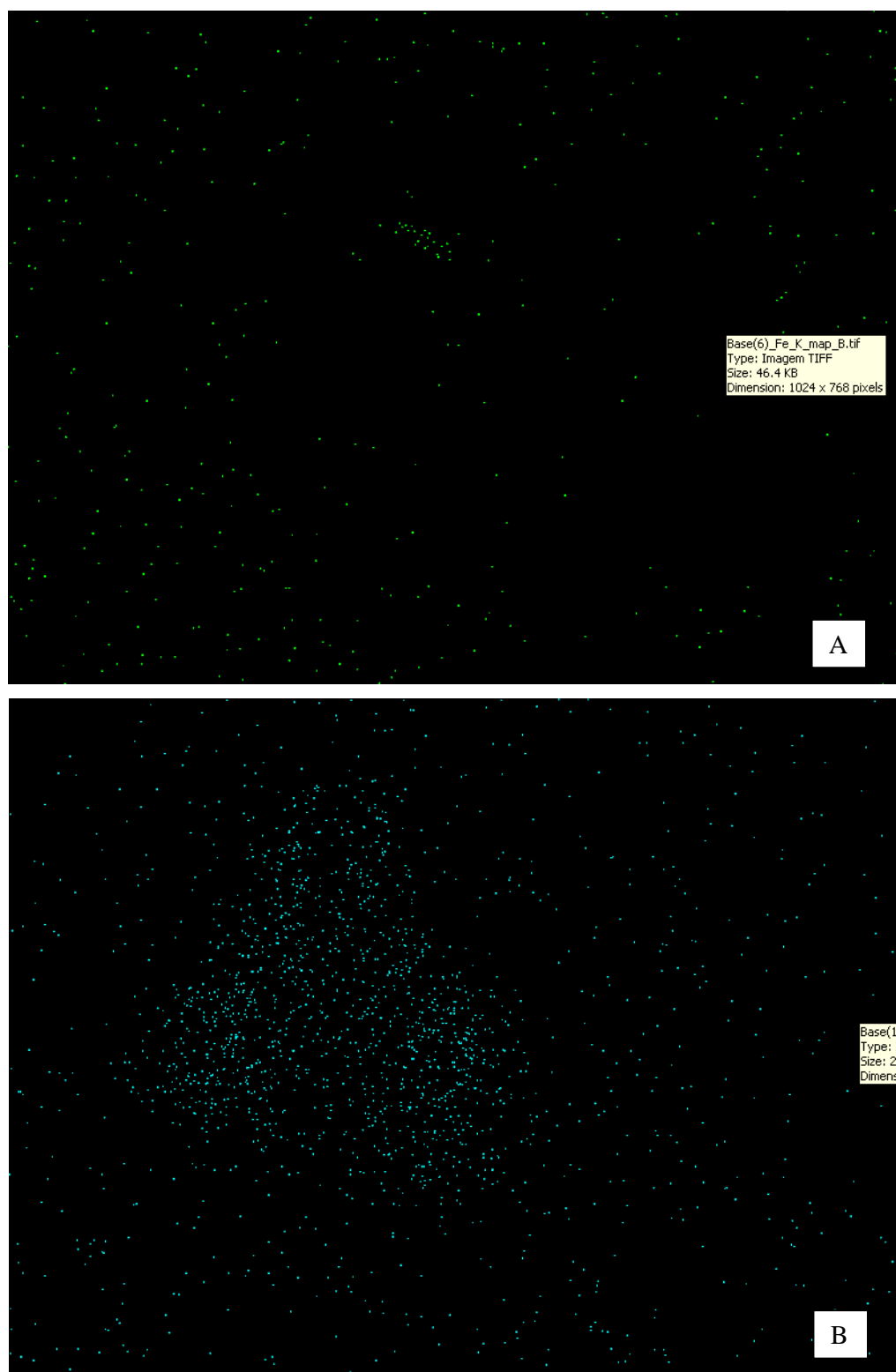


Figura 55. Mapeamento químico da superfície (A) interna e (B) externa do ferro suportado em quitosana.

Estudos desenvolvidos por Ngah *et al.* (2005) avaliaram a potencialidade da quitosana reticulada com glutaraldeído na adsorção de Fe^{2+} e Fe^{3+} , visando a sua aplicação como material adsorvente, constatando que a estrutura apresenta poros suficientemente grandes para permitir a absorção desse íons com melhor absorção de íons férricos em relação à íons ferrosos.

Apesar de não terem sido realizados ensaios de especiação da forma de ferro presente, Gamblin *et al.* (1998) investigaram a estrutura da quitosana complexada com ferro e utilizaram a espectroscopia Mossbauer para elucidar a estrutura química e os sítios de ligação do ferro na molécula de quitosana. Os resultados mostraram que ambos os grupamentos da quitosana, amino ($-\text{NH}_2$) e hidroxila ($-\text{OH}$) complexam íons Fe^{3+} e que mais de uma cadeia do polímero estão envolvidas na formação desses complexos.

Esses resultados demonstram que o processo empregado na adsorção de ferro pelas esferas de quitosana foi efetivo. Entretanto o ferro encontra-se disperso principalmente no interior das esferas principalmente sob a forma de goethita. Além disso, o ferro muda a sua estrutura ao longo do reuso passando para uma forma amorfa, porém sem perda significativa para o meio reacional.

5.4.3.2 Sistema Fenton heterogêneo sob luz artificial

Inicialmente, o efeito do pH e da massa de catalisador suportado na eficiência de degradação do sistema foto-Fenton heterogêneo foi avaliado, utilizando-se o planejamento fatorial completo apresentado na Tabela 7. Neste estudo foi considerada, apenas, a degradação de E2 e EE2 em concentração de $100,0 \mu\text{g L}^{-1}$, em razão das facilidades encontradas no seu monitoramento por HPLC-Flu, sem a necessidade de métodos preliminares de pré-concentração.

Os resultados (Tabela 24) indicam um efeito negativo do pH e um forte efeito positivo da massa de catalisador, o que faz com que degradações da ordem de 70% sejam observadas nas condições do experimento 3, em 30 min de tratamento.

O positivo efeito da massa de catalisador é fato bem conhecido, inclusive em estudos de degradação de 17β -estradiol por processos foto-Fenton assistidos por goethita suportada em resina (ZHAO e HU, 2008). Entretanto, estes resultados devem ser interpretados com cautela, em razão da elevada capacidade de adsorção apresentada por alguns suportes. Com o uso de uma resina catiônica de base polimérica de estireno divinilbenzeno como suporte, por exemplo, a adsorção do estrogênio E2 evoluiu de 17 para 97%, elevando-se a concentração de catalisador suportado de 2 para 50 g L^{-1} , provavelmente em decorrência de ligações de hidrogênio entre o estrogênio e o material de suporte (ZHAO *et al.*, 2010a).

Tabela 24. Condições avaliadas na otimização do processo foto-Fenton heterogêneo, E2 e EE2 = 100,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, (Tempo = 30 min, H_2O_2 = 100 mg L^{-1} , Volume de solução = 210 mL).

VARIÁVEL	Nível (-)	Ponto central	Nível (+)	DEGRADAÇÃO (%)	
pH	3	5	7		
Massa Quit/Fe(g)	10	20	30		
ENSAIO	pH	QUIT/Fe	E2	EE2	
1	-	-	40	46	
2	+	-	20	21	
3	-	+	68	70	
4	+	+	58	60	
5 (A/B)	0	0	34±9	35±5	

VARIÁVEL	EFEITOS	
	E2	EE2
pH	- 15	- 17
massa de quitosana/Fe	+ 33	+ 31
pH X massa	+ 5	+ 7
desvio médio (duplicatas)	9	5

Segundo relatos da literatura a quitosana apresenta uma elevada capacidade de adsorção de espécies inorgânicas e orgânicas (CHATTERJEE *et al.*, 2007; NGAH *et al.*, 2011; SHEN *et al.*, 2011). Ensaios de adsorção de E2 e EE2, empregando 10 e 30 g de catalisador suportado, indicaram adsorções de 5% e 15%, respectivamente, confirmando a tendência de maior adsorção em presença de maiores quantidades de quitosana/Fe.

O efeito do pH é de difícil interpretação, uma vez que influencia tanto a lixiviação de ferro do suporte, como a ocorrência de reações Fenton. Desta forma, uma análise aprofundada do seu efeito implica na necessidade de se discutir os mecanismos de reação envolvidos no sistema heterogêneo, o que será motivo de um item específico, logo a seguir.

Porém, segundo Zhao *et al.* (2010a) a goethita é carregada positivamente em pH ácido, o que favorece a interação com E2. Além disso, estudos de diversos autores (HE *et al.*, 2002; ZHANG *et al.*, 2008; ZHAO *et al.*, 2010a;) demonstraram melhora de eficiência em valores mais baixos de pH, porém vários fatores podem influenciar nesse processo, principalmente a atração entre analito e catalisador. Chen *et al.* (2012), por exemplo, testaram o processo foto-Fenton heterogêneo com ferro suportado a um ligante macrocíclico para degradar EE2 e obtiveram melhores resultados em pH 10,2.

Em função de um dos principais argumentos para a utilização de catalisadores suportados ser o aumento na faixa operacional de pH, os estudos subsequentes foram realizados em pH 7, mesmo em detrimento da eficiência do processo.

Em relação à massa, menores velocidades são esperadas com menores quantidades do catalisador por causa da limitação imposta pela transferência de massa

em catalisadores suportados, entretanto maiores massas favorecem o processo de adsorção e proporcionam menor penetração de luz na solução, por isso, menor massa de catalisador foi selecionada, de maneira a favorecer a ocorrência de processos heterogêneos.

Estudos cinéticos por processos Fenton (escuro) e foto-Fenton assistido por radiação UVA proveniente de uma lâmpada a vapor de mercúrio de alta pressão foram realizados em presença de 100 mg L^{-1} de H_2O_2 e demais condições definidas acima. Nestas condições, degradações da ordem de 30% foram observadas em estudos de degradação de E2 e EE2 por processos Fenton (Figura 56). No mesmo período, o consumo de peróxido foi mínimo, assim como a concentração de formas solúveis de ferro (Figura 57).

Nos processos assistidos por radiação UVA, a degradação dos estrogênios se processa rapidamente, alcançando remoções praticamente completas em tempos de reação de 90 min (Figura 56). Neste caso, o peróxido foi completamente consumido no processo e maiores concentrações de ferro solúvel foram observadas (Figura 58). Esses resultados sugerem, em primeira análise, importante participação da radiação no mecanismo de degradação.

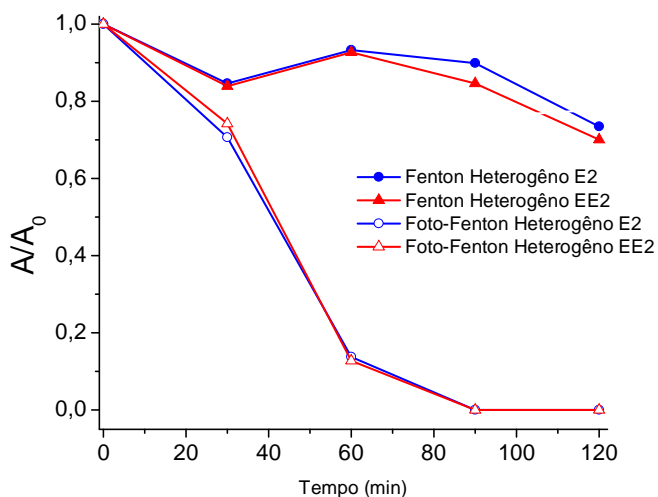


Figura 56. Degradação dos estrogênios por processos Fenton e foto-Fenton aplicados na presença de quitosana modificada com ferro (Estrogênios: $100,0 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, 210 mL, pH: 7, massa de fotocatalisador: 10 g, H_2O_2 : 100 mg L^{-1}).

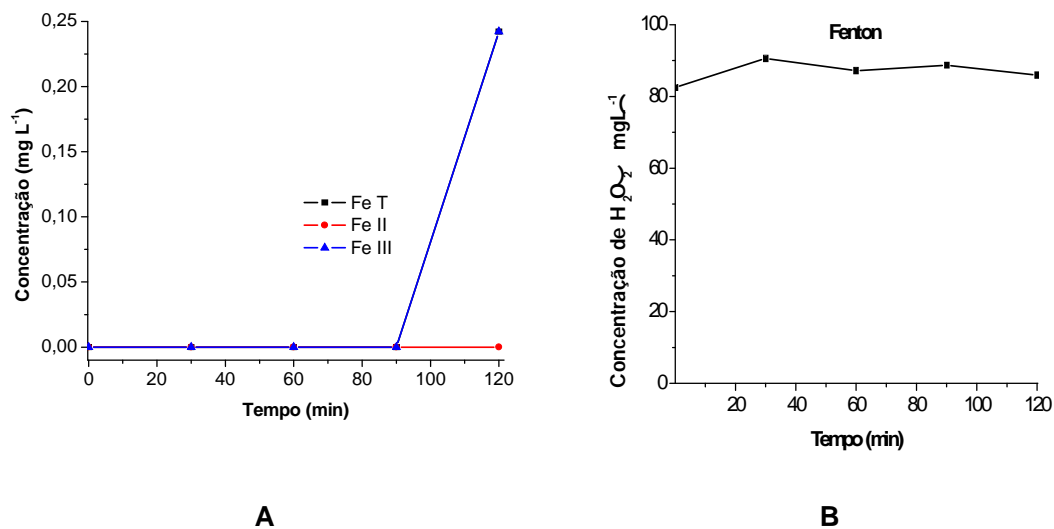


Figura 57. Acompanhamento da concentração de (A) formas ferrosas e férricas e de (B) H₂O₂ durante a degradação de E2 e EE2 por processos Fenton heterogêneos.

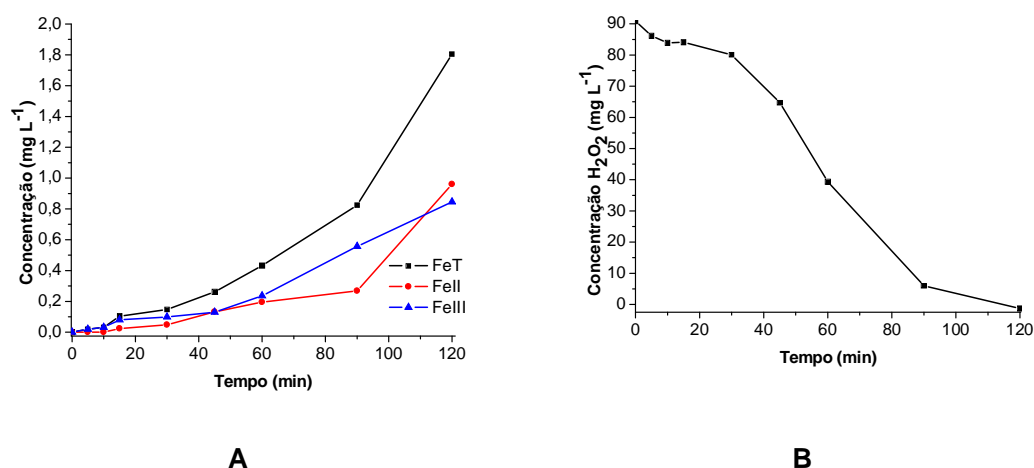


Figura 58. Acompanhamento da concentração de (A) formas ferrosas e férricas e de (B) H₂O₂ durante a degradação de E2 e EE2 por processos foto-Fenton heterogêneos.

Em estudos de degradação de E2 por processos foto-Fenton assistidos por goethita suportada em uma resina catiônica, Zhao e Hu (2008) obtiveram 86,4% de degradação após 8 horas de exposição em pH 7. Em pH 3, remoções de 98,2% foram observada após 8 horas. Os autores observaram pouca alteração do pH durante o período total de reação. Seus estudos demonstraram ainda que a estrogenicidade do

meio só foi eliminada após 22 horas de tratamento.

É importante salientar que em nossos estudos o fotocatalisador apresentou uma melhora na capacidade de degradação após o primeiro ciclo de reuso, permitindo completa remoção dos estrogênios em tempos de reação de 60 min a partir do terceiro ciclo (Figura 59).

Em função da concentração de ferro na matriz de suporte ter permanecido praticamente constante após 5 ciclos de reuso e em razão das mudanças observadas no perfil de difração (Figura 52) e nos espectros EPR (Figura 53) do catalisador sólido, postula-se que o tratamento possa induzir a formação de formas férricas amorfas, algumas das quais podem apresentar maior atividade catalítica do que a própria goethita.

De acordo com resultados apresentados por Huang e Huang (2008, 2009), formas amorfas de óxidos de ferro são mais eficientes do que goethita na degradação de fenol por processos Fenton. Resultados similares foram relatados por Li e Zhang (2010), utilizando FeOOH amorfo suportado em cinzas.

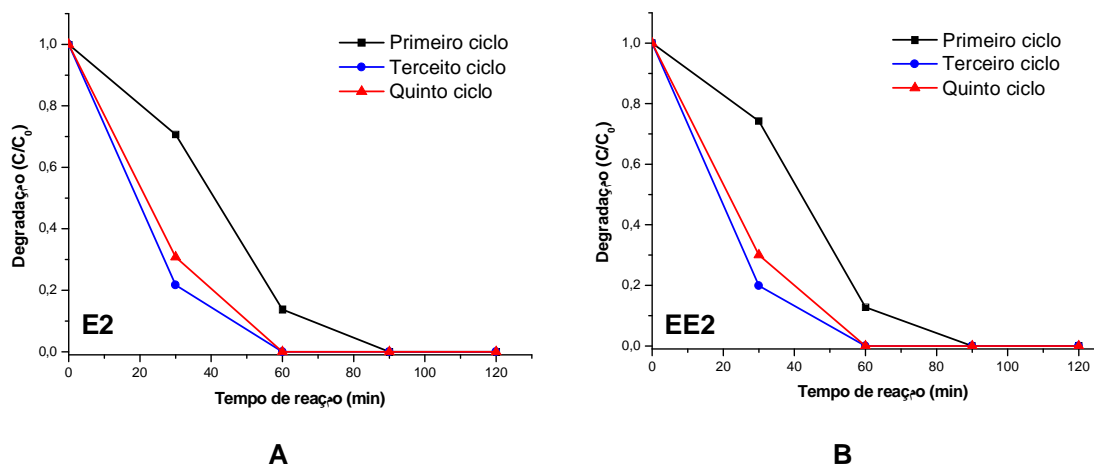


Figura 59. Degradação dos estrogênios E2 (A) e EE2 (B) por processos foto-Fenton aplicados na presença de quitosana modificada com ferro (Estrogênios: $100,0 \mu\text{g L}^{-1}$, 210 mL, pH: 7, massa de fotocatalisador: 10 g, H_2O_2 : 100 mg L^{-1}).

Em relação a alteração estrutural do ferro, Huang e Huang (2009) sugerem que ferro pode ser lixiviado da estrutura, após complexação com o ácido oxálico que é formado em etapas iniciais da reação. A geração de complexos Fe-oxalato permitiria a ocorrência de reações Fenton homogêneas, sendo que, posteriormente, a degradação do oxalato induziria um aumento do pH e a precipitação de formas amorfas de ferro que podem ser readsorvidas na superfície do suporte. Mais recentemente estas observações foram corroboradas por Lan *et al.* (2010).

Li e Zhang (2010) observaram a presença de ferro solúvel em concentrações da ordem de $0,3 \text{ mg L}^{-1}$, sugerindo que em pH 7 o ferro lixiviado é rapidamente hidrolisado a outras formas estáveis e menos solúveis de ferro, porém com grande contribuição para o processo global, mesmo nesse nível de concentração.

Recentemente Carra *et al.* (2012) demonstraram que o aporte contínuo de íons ferrosos a uma solução em pH 7 causa diminuição do valor de pH por contínua hidrólise dos íons ferrosos, com posterior desenvolvimento da reação em pH próximo a 3,0, e precipitação das espécies ferrosas formadas.

Para verificar as observações relatadas anteriormente, o pH foi monitorado durante um processo de degradação, observando-se os resultados apresentados na Figura 60. Estes resultados corroboram a significativa acidificação do meio nos primeiros 60 min de reação, o que pode ser explicado pela hidrólise do ferro solúvel e pela geração de subprodutos ácidos decorrentes do processo de degradação. Por sua vez, a elevação do pH até valores próximos a 4, após 60 minutos de tratamento, sugere a degradação do ácido oxálico inicialmente formado.

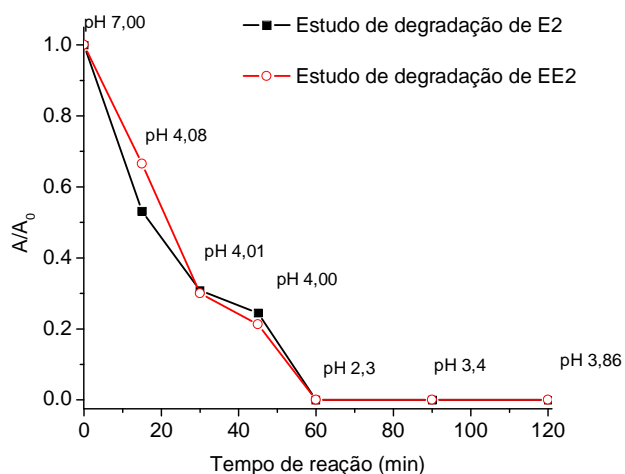


Figura 60. Evolução do pH durante processo de degradação dos hormônios E2 e EE2 por processos foto-Fenton aplicados na presença de quitosana modificada com ferro (Estrogênios: $100,0 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, 210 mL, pH: 7, fotocatalisador: 10 g, H_2O_2 : 100 mg L^{-1}).

Em função da possibilidade levantada por Carra *et al.* (2012), o monitoramento de íons ferro e pH foi realizado durante o processo de adsorção dos hormônios em pH inicial neutro e utilizando-se 30 g de esferas de quitosana/Fe. Após 180 minutos verificou-se a diminuição do pH de 7,0 para 4,0 e a presença de formas solúveis de Fe^{2+} da ordem de $0,70 \text{ mg L}^{-1}$, praticamente sem presença de Fe^{3+} em solução nem formação de precipitados de ferro. O uso de maior massa de fotocatalisador permitiu a lixiviação de

uma maior quantidade de íons ferrosos em solução, observação que é coerente com os resultados obtidos por Zhao e Hu (2008), em relação à lixiviação de ferro.

Segundo dados da literatura (MALATO *et al.*, 2009) formas hidrolisadas de ferro, como $\text{Fe}(\text{OH})_3$ são ressolubilizadas somente em $\text{pH} \approx 1,0$ e $1,5$, porém, podem ser redissolvidos por agentes complexantes como ácido oxálico ou por processo de fotolixiviação.

Buscando verificar a influência de baixas concentrações de íons ferrosos em processos foto-Fenton homogêneos, dois novos ensaios foram realizados empregando-se Fe^{2+} em concentração de $0,50$ e $0,30 \text{ mg L}^{-1}$. Nestas condições (Figura 61), degradações praticamente completas foram observadas após 90 minutos de tratamento, resultado este um pouco inferiores aos obtidos com o reuso das esferas de quitosana-Fe (Figura 59).

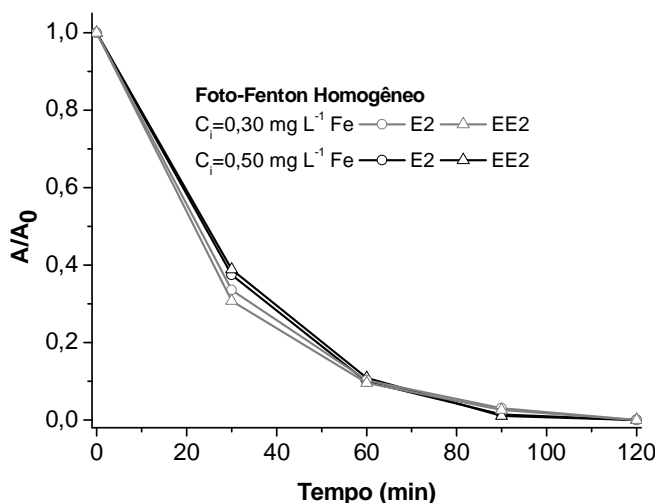


Figura 61. Degradação dos estrogênios por processos foto-Fenton aplicados na presença de $0,50$ e $0,30 \text{ mg L}^{-1}$ de Fe^{2+} em solução. A_0 medido após 5 minutos de experimento Fenton. (Estrogênios: $100,0 \mu\text{g L}^{-1}$, 210 mL , pH : 7 , H_2O_2 : 100 mg L^{-1}).

No mesmo período também foi monitorado o pH (Tabela 25), o consumo de peróxido e a concentração de íons ferro em solução (Figura 62).

Os dados da Figura 62 mostram baixo consumo de peróxido durante os processos, acompanhado de decréscimo da concentração de íons ferrosos, juntamente com o pH do meio (Tabela 25), porém, com degradações da ordem de 60% para os estrogênios E2 e EE2 nos primeiros 30 minutos de reação (Figura 61). A variação do pH está de acordo com os resultados do processo de adsorção, não sendo observada a deposição de formas menos solúveis de ferro, o que novamente pode ser explicado por

fotocorrosão das formas ferrosas, ou formação de complexos Fe-oxalato, em acordo com observações de alguns autores (HUANG e HUANG, 2008, 2009; LAN *et al.*, 2010; LI e ZHANG, 2010; DOPAR *et al.*, 2011).

Em relação à velocidade de degradação, os resultados foram surpreendentes, ainda mais se considerarmos que parte dos íons ferrosos atuou no processo de redução do pH. Entretanto, pode-se admitir que o rápido processo inicial de degradação leva à formação de subprodutos de menor massa, como ácido oxálico, melhorando o processo. Alguns estudos têm mostrado que a adição de ácido oxálico em processos foto-Fenton melhoram os resultados de degradação em valores de pH entre 4,0 e 6,0 (JEONG e YOON, 2005; HUANG *et al.*, 2010).

Tabela 25. Monitoramento do pH durante a degradação de E2 e EE2 por processos foto-Fenton homogêneo empregando $0,30 \text{ mg L}^{-1}$ de Fe^{2+} .

	Adsorção (Fenton)				Foto-Fenton			
Tempo (min)	0	1,5	3,0	5,0* (0)	30	60	90	120
pH	6,98	6,52	6,58	6,59	5,82	4,73	4,65	4,24

* O tempo 5 min para adsorção corresponde ao tempo zero (0) do processo foto-Fenton. Nesse período a lâmpada permaneceu desligada, ocorrendo somente processo Fenton

Em um estudo complementar foi avaliada também a possibilidade do ferro existente na matriz de quitosana ser responsável pela degradação no processo foto-Fenton. Assim, ensaios de adsorção e degradação com quitosana reticulada (sem adição de ferro) foram realizados nas mesmas condições relatadas anteriormente. Os resultados (Figura 63) mostraram que o ferro estrutural da quitosana também permite a degradação dos estrogênios, porém a uma velocidade bem menor que a observada nos processos que utilizam quitosana modificada. Degradações superiores a 95% só foram obtidas após 180 minutos de reação. Além disso, o acompanhamento do pH mostrou apenas um pequeno decréscimo, variando de 7,0 para aproximadamente 6,3 após 90 minutos de uso, quando permaneceu estável até 180 minutos.

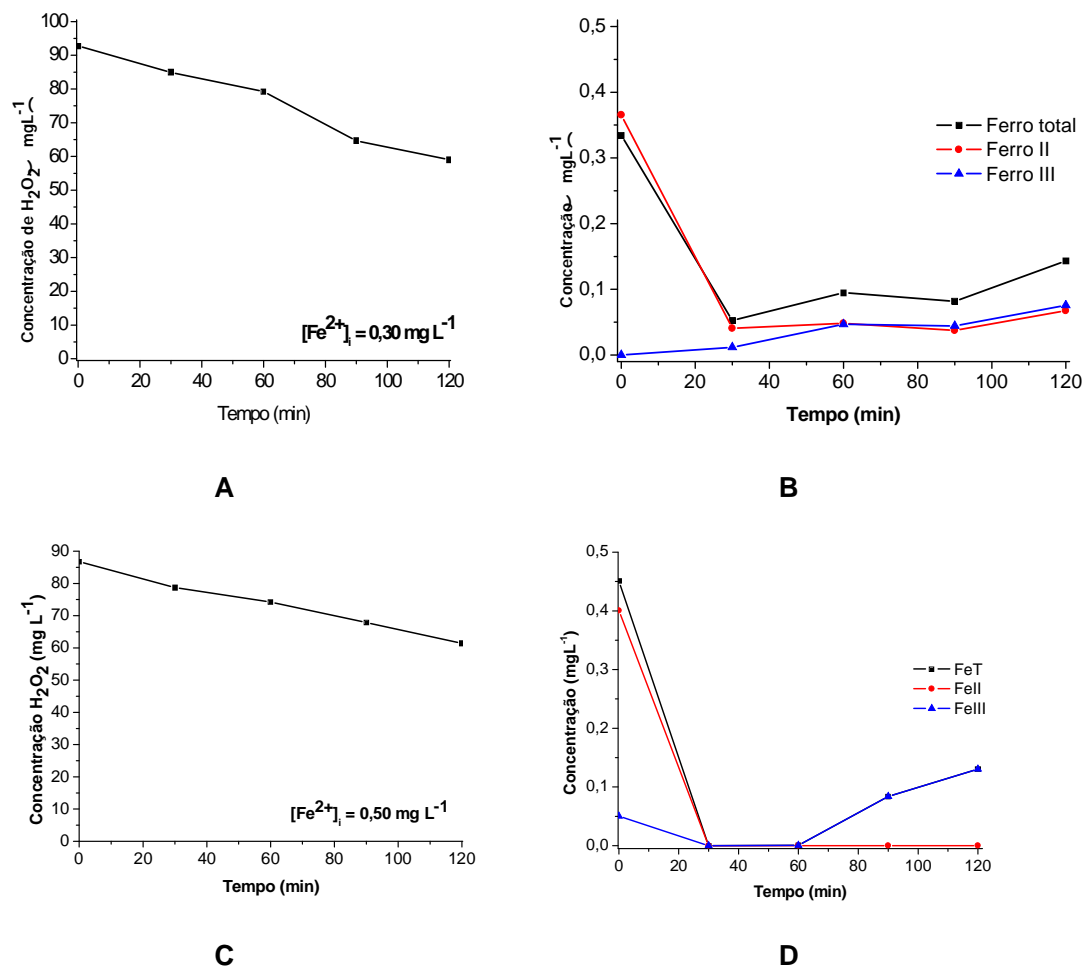


Figura 62. Acompanhamento da concentração de H_2O_2 (A e C) e de formas ferrosas e férricas (B e D) durante a degradação de E2 e EE2 por processos foto-Fenton homogêneo empregando baixas concentrações de íons ferrosos.

Estes resultados sugerem baixa contribuição do ferro existente na estrutura da quitosana, empregando um mecanismo diferente para o processo de degradação da amostra aquosa.

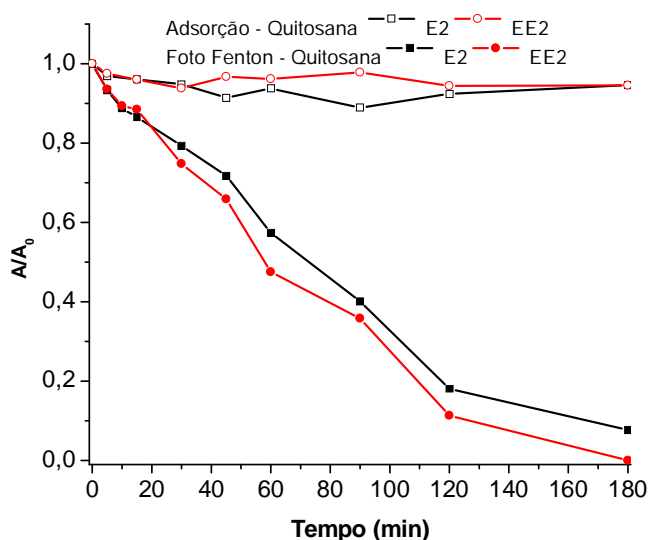


Figura 63. Degradação dos estrogênios por processos foto-Fenton aplicados na presença de quitosana sem adsorção de ferro (Estrogênios: $100,0 \mu\text{g L}^{-1}$, 210 mL, pH: 7, massa de fotocatalisador: 10 g, H_2O_2 : 100 mg L^{-1}).

5.4.3.3 Estudos de degradação em processos Fenton heterogêneo sob luz solar natural

Estudos de degradação por processos foto-Fenton heterogêneo foram realizados no reator parabólico de bancada, utilizando-se as condições previamente definidas (10 g de esferas de quitosana-Fe, 100 mg L^{-1} de H_2O_2 e pH 7,0). Soluções dos estrogênios E2 e EE2 em concentração de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ foram tratadas por 5 min por processos Fenton e a seguir expostas à luz solar por tempos de até 120 minutos. Nestas condições, degradações da ordem de 40% e 50% foram observadas para E2 e EE2, respectivamente (Figura 64), resultado bastante inferior ao observado em processos assistidos por radiação artificial UVA.

O monitoramento de H_2O_2 e de formas ferrosas e férricas (Figura 65) permitiu verificar um baixo consumo do peróxido e a presença de pequenas quantidades de Fe^{2+} e Fe^{3+} em solução. O acompanhamento do pH (Tabela 26) demonstrou que o período de homogeneização inicial provocou um queda do pH para valores próximos a 4,0, e permaneceu praticamente inalterado durante todo o processo.

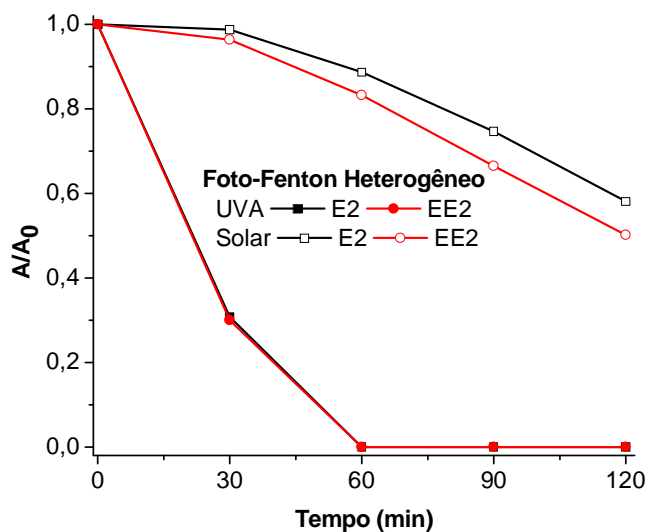


Figura 64. Degradação dos estrogênios por processos foto-Fenton heterogêneos em reator parabólico sob luz solar. (10 g de esferas de quitosana-Fe, 100 mg L⁻¹ de H₂O₂ e pH 7,0, E2 e EE2 a 100,0 µg L⁻¹)

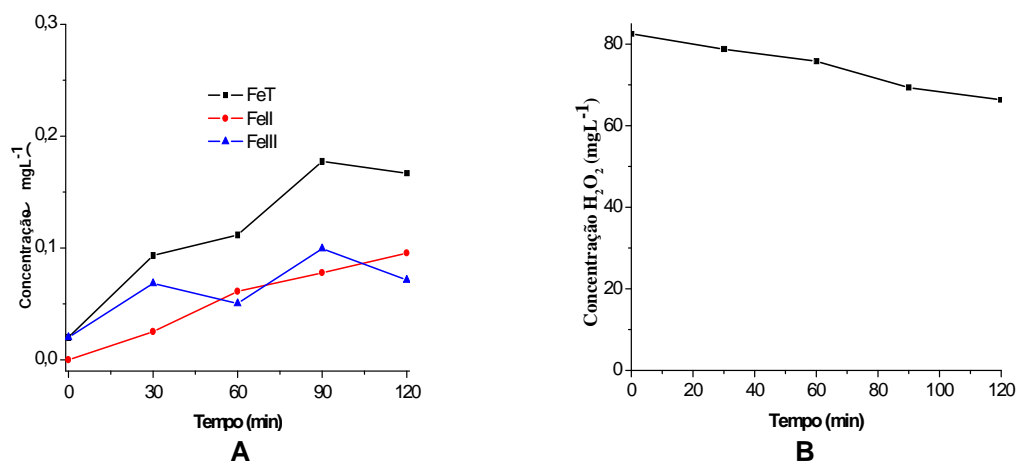


Figura 65. Acompanhamento da concentração de (A) formas ferrosas e férricas e de (B) H₂O₂ durante a degradação de E2 e EE2 por processos foto-Fenton heterogêneo em reator parabólico sob luz solar

Assim como já havia sido constatado nos processos Fenton homogêneos, realizados em um reator parabólico exposto a luz solar, a eficiência de degradação empregando este tipo de reator é limitada quando comparada com a radiação artificial ou solar empregando reator CPC.

Segundo Malato *et al.* (2009) em processos envolvendo energia solar a quantidade de contaminantes degradada é dependente da concentração inicial do poluente, do tempo de iluminação e da intensidade do fluxo da energia solar UV. Considerando que as reações do processo fenton-heterogêneo sob radiação solar foram

realizados nas mesmas condições iniciais do processo sob radiação artificial, a diferença de degradação pode ser atribuída à intensidade do fluxo incidente. A lâmpada artificial proporciona radiação acima de 3 mW cm^{-2} enquanto a radiação solar emite entre 1,2 e $2,6 \text{ mW cm}^{-2}$.

Tabela 26. Monitoramento do pH durante a degradação de E2 e EE2 por processos foto-Fenton heterogêneo sob luz solar natural, empregando 10g de esferas de quitosana-Fe, 100 mg L^{-1} de H_2O_2 e pH 7,0. Soluções dos estrogênios E2 e EE2 a $100 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$.

	Adsorção (Fenton)		Foto-Fenton			
Tempo (min)	0	5* (0)	30	60	90	120
pH	7,00	4,71	4,1	3,9	3,9	3,9

* O tempo 5 min para adsorção corresponde ao tempo zero (0) do processo foto-Fenton. Nesse período a lâmpada permaneceu desligada, ocorrendo somente processo Fenton

Yuranova *et al.* (2004) relataram a influência da intensidade luminosa na degradação do corante Orange II em um processo Fenton heterogêneo, avaliando-se intensidades de 0 a 90 mW cm^{-2} . Uma grande melhora no tempo de degradação ocorreu de 0 até 70 mW cm^{-2} , com diferenças muito pequenas observadas entre 70 e 90 mW cm^{-2} .

Outra constatação importante está relacionada com a baixa velocidade de reação observada nos primeiros 30 minutos de reação (Figura 64). De acordo com antecedentes da literatura, a redução dos íons férricos formados inicialmente é um processo lento, que pode ser acelerado pela presença de ácidos carboxílicos e quinonas, subprodutos que são formados durante o processo de degradação. Dentro deste contexto, particularmente importante se mostra a presença de ácido oxálico, que permite um significativo aumento na eficiência quântica do processo (CHEN e PIGNATELIO, 1997; MALATO *et al.*, 2009).

Mecanismo de degradação

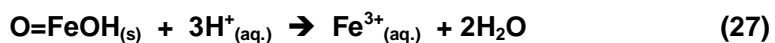
Em função da complexidade do processo, envolvendo superposição de mecanismos homogêneos e heterogêneos, acredita-se que a capacidade de degradação observada seja uma função de vários fatores, provavelmente agindo sinergicamente. Para contribuir com a elucidação das principais vias reacionais, um estudo sistemático dos fatores que afetam o processo foi realizado, principalmente levando em consideração várias hipóteses discutidas na literatura recente.

Com o uso de formas imobilizadas de ferro, particularmente óxidos férricos como goethita, admite-se que os processos Fenton podem ocorrer em fase homogênea ou

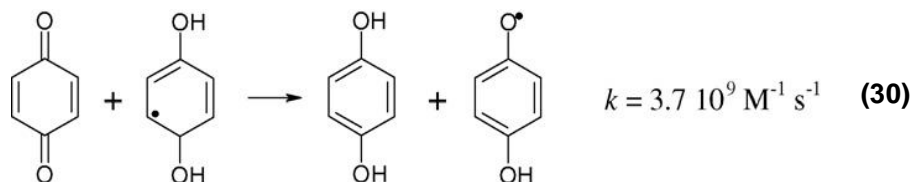
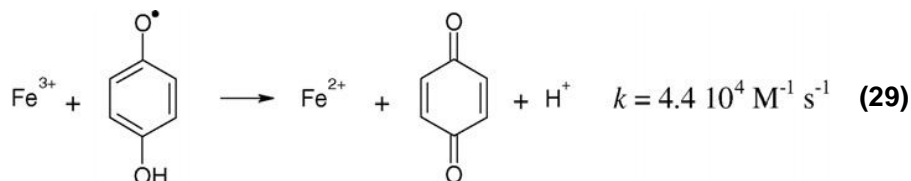
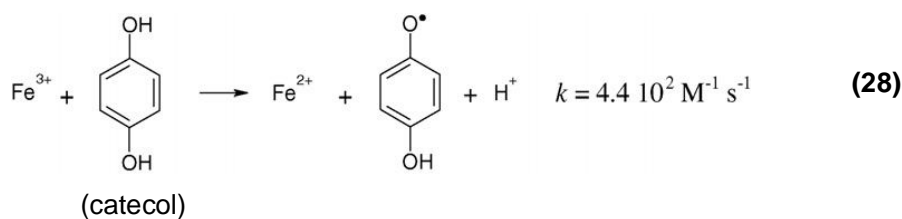
heterogênea, dependendo das condições de reação. Em geral, três caminhos de reação são admitidos para a lixiviação de íons ferro:

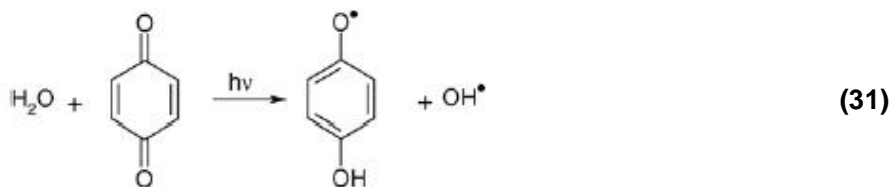
- Dissolução de ferro em meio ácido, com formação de íons férricos em solução que agem como precursores do processo,
- Dissolução redutiva de ferro na presença de subprodutos de degradação, como quinonas e hidroquinas
- Dissolução não redutiva de ferro na presença de subprodutos de degradação, como ácidos carboxílicos de cadeia curta, com destaque para o ácido oxálico.

O primeiro caminho considera que baixos valores de pH favorecem a lixiviação de ferro (III), o que faz com que processo receba uma maior contribuição de reações em fase homogênea (MALATO *et al.*, 2009). Em geral, estima-se que a concentração de ferro lixiviado aumenta com o tempo de reação, mas dificilmente ultrapassa a concentração de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ (eq. 27, ORTIZ DE LA PLATA *et al.*, 2010a).

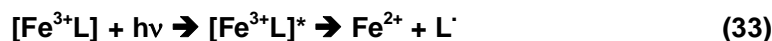


O segundo fator que contribui para os processos foto-Fenton é a presença de intermediários de reação de caráter quinônico, que podem facilitar a solubilização redutiva de ferro, o que também favorece reações Fenton em solução (CHEN e PIGNATELLO, 1997; LAN *et al.*, 2010; ORTIZ DE LA PLATA *et al.*, 2010a). Este processo pode ser representado pelas equações 28 a 31 (CHEN *et al.*, 2002; MALATO *et al.*, 2009), porém só ocorre na presença de substâncias aromáticas.





Adicionalmente, alguns autores salientam a possibilidade de dissolução não redutiva do ferro, em função da complexação preliminar do ferro (III) com um intermediário ácido da reação (ácido oxálico), que apresenta maior solubilidade em valores de pH entre 4 e 6, faixa de pH em que os hidróxidos de Fe^{3+} são insolúveis. Após a dissolução, o metal transfere elétrons para o ligante seguida de solubilização redutiva na presença de radiação (MAZELLIER e SULZBERGER, 2001; ZHAO e HU, 2008; HUANG e HUANG, 2009). Esse processo pode ser representado pelas equações 32 a 34 (MAZELLIER e SULZBERGER, 2001).



Uma representação esquemática das vias reacionais fundamentadas na lixiviação preliminar de formas férricas ou ferrosas é apresentada na Figura 66.

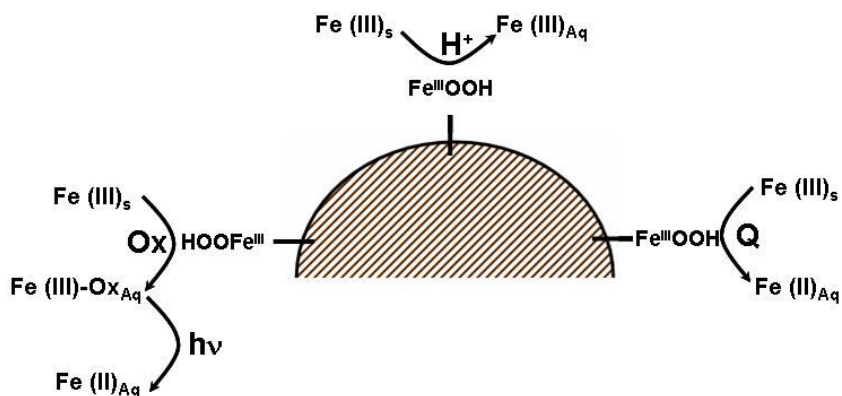
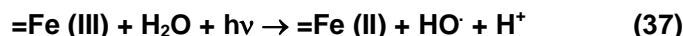
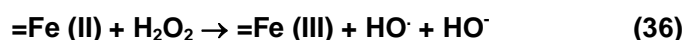
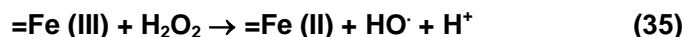


Figura 66. Representação dos mecanismos de lixiviação de formas férricas e ferrosas a partir de óxidos de ferro em processos foto-Fenton.

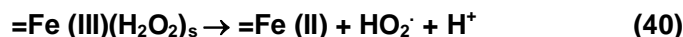
Além destas três vias que apontam para mecanismos homogêneos, alguns autores têm proposto vias reacionais de caráter heterogêneas, as quais têm sido observadas em diferentes condições experimentais.

Zhao *et al.* (2010a) propuseram que o processo foto-Fenton heterogêneo pode ocorrer sem que o ferro seja lixiviado para o meio reacional, basicamente em função de processos *like*-Fenton que ocorrem na superfície do catalisador. Seus resultados são embasados em análises por espectroscopia de fotoelétrons emitidos por Raios-X, os quais mostraram alteração na proporção de íons $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ na superfície do catalisador durante o processo de degradação de E2.

González-Bahamón *et al.* (2011a) também propuseram este caminho de reação para a completa degradação de resorcinol por processo Fenton-Heterogêneo. Eles consideraram esta etapa como precursora do início da reação, atingindo completa degradação do composto em 40 minutos, quando a concentração de ferro atingiu $0,4 \text{ mg L}^{-1}$, decaindo a $0,2 \text{ mg L}^{-1}$ nos 20 minutos posteriores. Nesse mesmo trabalho, estudos realizados por processo foto-Fenton homogêneo empregando $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ e $0,2 \text{ mg L}^{-1}$ proporcionaram completa degradação em 100 e 60 minutos, respectivamente, levando a conclusão de que exceto nos minutos iniciais, o restante do processo transcorre de forma homogênea. As reações propostas nesse trabalho são apresentadas nas equações 35 a 38. A existência da reação representada na equação 37 também é admitida por Soon e Hamed (2011).

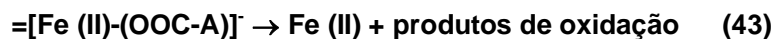
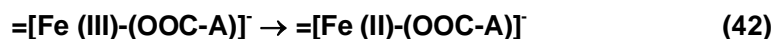
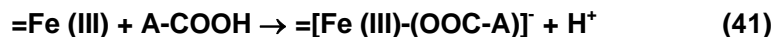


Outro trabalho dos mesmos autores (González-Bahamón *et al.*, 2011b) propôs ainda que o H_2O_2 sofre interação na superfície do íon férrico, acrescentando duas novas reações ao processo, representado pelas equações 39 e 40.



Com o transcorrer da reação, González-Bahamón *et al.* (2011b) admitem ainda que o processo forma ácidos carboxílicos que promovem a redução do ferro, porém com essa reação ocorrendo na superfície do ferro suportado, e não em solução, como mostrado na equação 34. Ao final do processo, com a decomposição dos ácidos de cadeia menor, o ferro seria solubilizado, e então poderia voltar para a superfície do suporte ou precipitar. Essas reações são representadas pelas equações 41 a 43. Neste trabalho, eles comprovaram ainda que o aumento da quantidade de ferro no foto-Fenton homogêneo, de $0,2 \text{ mg L}^{-1}$ para $0,3 \text{ mg L}^{-1}$, proporciona a degradação do resorcinol em apenas 40 minutos, mesmo tempo gasto no foto-Fenton heterogêneo. Uma diferença

importante pode ser observada nas curvas de degradação, enquanto o processo foto-Fenton homogêneo já inicia com uma grande velocidade, no processo heterogêneo pouca degradação ocorre nos primeiros 20 minutos de reação, a partir da qual ela se processa com grande velocidade. Esse mesmo caminho de reação também é proposto por outros pesquisadores (FENG *et al.*, 2003, 2009; BOBU *et al.*, 2008; e HUANG e HUANG, 2009).



Em relação ao ataque direto do peróxido de hidrogênio, Ortiz de La Plata *et al.* (2010a) propõe que os radicais hidroxila formados na superfície do Fe^{3+} tem baixa velocidade de difusão, sendo consumidos na própria superfície antes que possam alcançar o “bulk” da solução, gerando um caminho improdutivo em termos de geração de radicais hidroxila. Entretanto, He *et al.* (2002) admitem que a interação do peróxido com o ferro suportado permite a ocorrência de processos redox catalisados pela radiação que levam a formação de ferro em elevado estado de valência (ferril), espécie que permite a decomposição da água, com formação de radical hidroxila.

A formação de ácido oxálico como subproduto de degradação é amplamente aceita entre os pesquisadores da área. Navalon *et al.* (2010) demonstra a formação de ácido carboxílicos durante o processo de degradação, principalmente em maiores tempos de reação. Por outro lado, subprodutos como catecol e hidroquinona foram observados no estágio inicial da reação. Estudos de Zuo e Hoigne (1992, 1993) demonstraram que baixas concentrações de ácido oxálico e ferro são capazes de gerar peróxido de hidrogênio, que auxilia no desenvolvimento das reações em processos heterogêneos, mesmo na ausência de adição de peróxido. Estudos de Lan *et al.* (2010) comprovaram a formação de peróxido empregando baixas concentrações de ferro ($0,056 \text{ mg L}^{-1}$) e oxalato ($0,440 \text{ mg L}^{-1}$).

Pode-se destacar ainda, resultados obtidos por Lan *et al.* (2010, 2011) que observaram a existência de formas ferrosas e férricas complexadas com oxalato na superfície do catalisador e no meio reacional, desempenhando um importante papel na interação entre reações de superfície e reações em solução. Eles concluíram que após 30 minutos no escuro, um equilíbrio foi formado entre complexos de $Fe(III)$ -oxalato em solução e na superfície dos materiais contendo ferro, com Fe^{2+} sendo gerado por lenta dissolução redutiva na ausência da luz. A presença de íons Fe^{3+} em solução na ausência de luz também foi observada por Catrinescu *et al.* (2012), o que foi atribuído a reações *like-Fenton*.

Uma representação esquemática das vias reacionais fundamentadas em processos heterogêneos é apresentada na Figura 67.

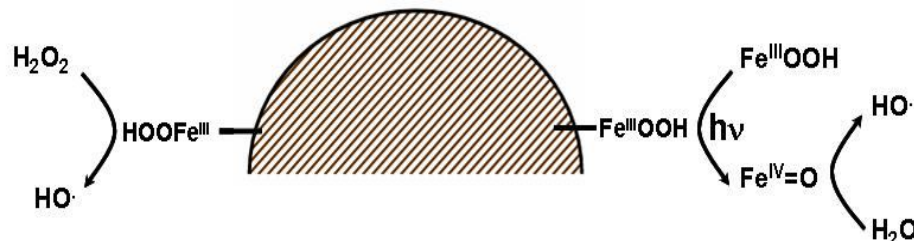


Figura 67. Representação de mecanismos heterogêneos associados a processos foto-Fenton aplicados na presença de óxidos férricos.

Para verificar o efeito das condições experimentais na lixiviação de ferro a partir do catalisador suportado em quitosana foi elaborado um planejamento fatorial 2^3 , avaliando-se o efeito do pH (pH 3 e 7), da presença de radiação (sem/com) e do H_2O_2 (0 e 100 mg L^{-1}). Os ensaios foram realizados com 5 g de catalisador suportado, suspenso em solução aquosa.

Os resultados, que correspondem à concentração de ferro (II) e ferro total (II e III) em tempos de contato de 30 min (Figura 68) e o cálculo dos efeitos das variáveis (Tabela 27), sugerem efeito insignificante das variáveis estudadas, o que pode estar relacionado com a liberação de concentrações muito baixas de ferro solúvel ($<1 \text{ mg L}^{-1}$) em todas as condições ensaiadas.

Estudos adicionais realizados na presença de hidroquinona (0 e $20 \text{ }\mu\text{g L}^{-1}$) e pH 3 ou 7, também mostraram concentrações de ferro solúvel inferiores a $0,36 \text{ mg L}^{-1}$, o que também demonstra uma escassa influência da sua presença na lixiviação de ferro do catalisador sólido.

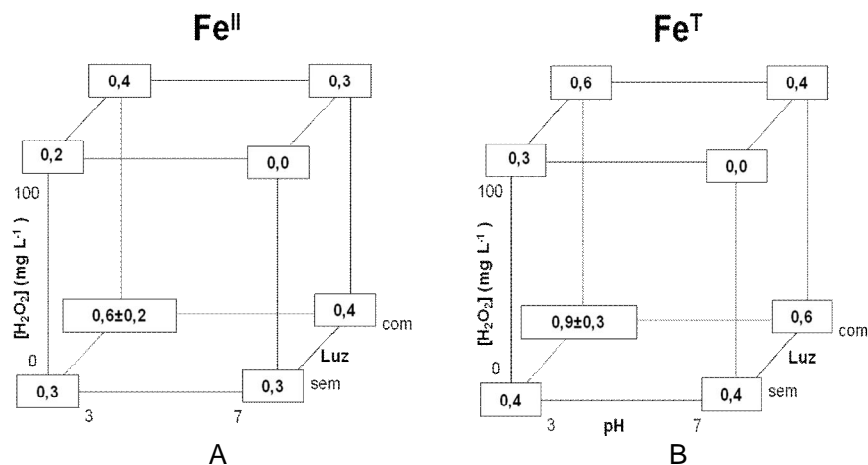


Figura 68. Representação geométrica do planejamento 2^3 elaborado para estudar o efeito das condições experimentais na lixiviação de ferro do catalisador quitosana/Ferro

Tabela 27. Cálculo dos efeitos das variáveis pH, radiação, e H_2O_2 na lixiviação das esferas de quitosana empregando 5 g de esferas, 100 mL de água ultrapura e 30 minutos de reação.

Variável	Efeitos	
	Fe ^{II}	Fe ^T
pH	-0,1	-0,2
H ₂ O ₂	-0,2	-0,2
Luz	0,2	0,4
pH x luz	0,0	-0,1
H ₂ O ₂ x luz	0,0	-0,0
pH x H ₂ O ₂	-0,0	-0,0
Desvio médio (triplicata)	0,2	0,3

Diante dos resultados apresentados é possível admitir que a rápida diminuição do pH nas reações realizadas na presença do catalisador suportado é mais coerente com a hidrólise de formas amorfas de ferro existentes no interior das esferas de suporte, o que, posteriormente favorece a dissolução do ferro suportado.

As baixas concentrações de ferro solúvel verificadas nos processos heterogêneos e a maior velocidade de degradação observada, em relação a sistemas homogêneos operando com baixa concentração de ferro solúvel, são fortes indícios da ocorrência simultânea de processos homogêneos e heterogêneos.

Adicionalmente, a relativamente baixa velocidade de degradação observada em processos assistidos por baixa intensidade de radiação (ex. luz solar) sugere que a sua

presença é fundamental para aceleração do processo, o que é consistente com mecanismos baseados na presença de ácidos carboxílicos, em especial ácido oxálico.

A contribuição dos processos redutivos com participação de compostos quinônicos não pode ser descartada, principalmente em se tratando de compostos com presença de anel aromático como os estrogênios testados, para os quais ensaios de LC-MS-MS já comprovaram a formação de subprodutos quinônicos.

Em função de todos os antecedentes apresentados, é possível admitir a ocorrência de processos homogêneos e heterogêneos simultâneos (HUANG e HUANG, 2008; ZHAO e HU, 2008, ZHAO *et al.*, 2008, 2010a, 2010b; ORTIZ DE LA PLATA *et al.*, 2010a, 2010b; MOLINA *et al.*, 2012; KRYSA *et al.*, 2011; GONZALES-BAHAMÓN *et al.*, 2011b), alguns dos quais poderá ser favorecido em condições experimentais específicas que dependem, da natureza do óxido férrico e do composto alvo, da acidez do meio e da presença de espécies auxiliares (ex. oxalato e quinonas), da quantidade de catalisador e de peróxido, dentre outros fatores de relevância.

5.4.3.6. Comentários sobre processos Fenton heterogêneos

Tal como proposto, sistemas Fenton aplicados na presença de fotocatalisador suportado apresentam uma boa capacidade de degradação, mesmo em valores de pH próximos à neutralidade. O mecanismo de degradação, entretanto, se mostra bastante complexo, em razão de vias reacionais homogêneas e heterogêneas que dependem de muitas variáveis operacionais.

A possibilidade de reuso do catalisador e da utilização de radiação solar merecem especial destaque, uma vez que favorecem o desenvolvimento de sistemas de tratamento operando em grande escala.

5.5 DEGRADAÇÃO DE AMOSTRAS DE ESGOTO

5.5.1 Tratamento de estrógenos em amostras de esgoto em escala de bancada empregando TiO_2 e radiação artificial

Amostras de esgoto tratado foram coletadas na ETE A, apresentando DQO inferior a 100 mg L^{-1} e pH em torno de 7. As referidas amostras foram fortificadas com $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de E1, E2 e EE2 e deixadas em repouso por 24 horas, sob refrigeração. Posteriormente, as amostras foram submetidas ao tratamento em escala de bancada com TiO_2 em suspensão ou suportado, em condições análogas às utilizadas no estudo envolvendo soluções padrão aquosas.

Após o processo de fotocatalise, as amostras foram filtradas em filtro de fibra de vidro de $0,6 \mu\text{m}$, pré-concentradas 100 vezes e levadas para determinação por HPLC-DAD-Flu.

Os resultados mostraram que com o uso de TiO_2 em suspensão a degradação dos estrogênios se processou lentamente, alcançando remoções da ordem de 15% para E2 e 47% para EE2, após 60 minutos de reação (Figura 69). Estes resultados são muito inferiores aos obtidos em solução aquosa, porém, é importante salientar que após os primeiros 15 minutos de tratamento o catalisador começou a formar glóbulos, diminuindo consideravelmente sua superfície de contato.

Com o uso de TiO_2 imobilizado em anéis de vidro a remoção média para ambos os estrogênios (E2 e EE2) foi da ordem de 84%, após 60 minutos de tratamento. Estes resultados são próximos aos obtidos no tratamento de soluções aquosas, porém em 30 minutos de tratamento.

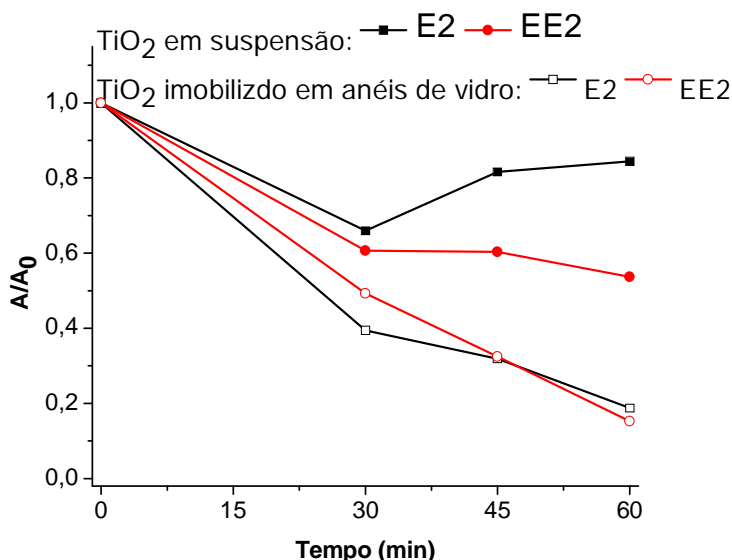


Figura 69. Tratamento de amostra de efluente de estação de tratamento de esgoto, fortificada com com $50,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de E2 e EE2, por fotocatalise heterogênea com TiO_2 em suspensão e imobilizado em anéis de vidro. (pH = 7,0)

Segundo Malato *et al.* (2009), o tamanho das partículas de TiO_2 é afetado diretamente pelo pH do meio, sendo menor quanto mais afastada a solução estiver do pH do ponto de carga zero do catalisador. Nestas condições não há a rejeição necessária para separar as partículas do catalisador no meio líquido, induzindo a agregação do TiO_2 e formação de aglomerados, afetando a capacidade da suspensão para absorver e transmitir luz, e exigindo aumento da agitação, a fim de evitar o processo de sedimentação.

Ainda segundo Malato *et al.* (2009) em degradações iniciadas em pH superior ao pH do ponto de carga zero do TiO_2 (PCZ $\approx 6,5$), é comum um decréscimo no pH devido à

formação de ácidos carboxílicos de cadeias menores como produtos de degradação antes do processo de mineralização, e liberação de ácidos inorgânicos (HCl, H₂SO₄, HNO₃, etc.) produzidos a partir de contaminantes contendo cloro, enxofre e nitrogênio.

A oscilação na concentração dos hormônios nas amostras com TiO₂ em suspensão pode ser devida a não uniformidade da solução, relacionada com a agregação e sedimentação do TiO₂. Fato semelhante foi observado por Nasuhoglu *et al.* (2012) em amostras do hormônio levonogestrel (LNG) em presença de TiO₂ em suspensão.

Ainda em relação à diferença de degradação obtida entre amostras aquosas e amostras reais, alguns autores relatam maior eficiência no processo de fotólise de amostras de águas naturais, atribuída a presença de matéria orgânica dissolvida (CAUPOS *et al.*, 2011; CHOWDHURY *et al.*, 2011). Entretanto, na fotocatalise uma menor eficiência dos sistemas empregando amostras naturais em relação a amostras aquosas é esperada. Essa diferença está relacionada ao fato dos compostos orgânicos competirem pela absorção de fótons com o catalisador, elevarem o consumo dos radicais hidroxila gerados e causarem um maior espalhamento da luz. Além disso, a presença de substâncias inorgânicas também afeta o processo de fotocatalise (MALATO *et al.*, 2009).

Considerando poluentes presentes em águas naturais, Karpova *et al.* (2007) avaliaram a influência de uréia, urina e sacarose na fotocatalise de E2 e EE2, observando que sacarose e urina dificultam o processo de degradação, fato não observado para a uréia.

Frontistis *et al.* (2012) em ensaios de degradação de EE2 por fotocatalise UVA em matrizes aquosas e efluente de uma estação de tratamento, observaram que o tempo necessário para completa degradação de EE2 no efluente é três vezes maior que o necessário para a matriz aquosa. A diferença foi atribuída à presença de matéria orgânica no efluente, bem como à presença de bicarbonatos, cloretos e sulfatos, que competem com o hormônio para reação com os sítios ativos do catalisador, bem como pelo consumo dos radicais hidroxila gerados.

Nasuhoglu *et al.* (2012) estudaram a degradação fotocatalítica de EE2 e LNG em amostras aquosas em pH 5,5 e de amostras de esgoto em pH 6,8. Para evitar aglomeração e subsequente perda de eficiência, a suspensão de TiO₂ foi agitada durante uma noite com fornecimento constante de oxigênio, e, posteriormente, sonicada por 30 minutos antes do início do tratamento. Empregando radiação UVC e solução aquosa, após 30 minutos de tratamento foi observada uma remoção de 92% de EE2 por fotólise e 60% por fotocatalise, porém, em amostras de esgoto, após 40 minutos de tratamento a fotólise foi responsável por 36% de remoção enquanto a fotocatalise removeu 59%. A redução da eficiência do processo, mesmo aplicando luz de maior energia, foi atribuída à complexidade da matriz.

Recentemente, Zhang *et al.* (2012) avaliaram a influência de íons inorgânicos (NH_4^+ , NO_3^- e HPO_4^{2-} , etc), e matéria orgânica dissolvida, na redução da atividade estrogênica de águas coletadas na saída de ETE's e submetidas à fotocatalise empregando TiO_2 /UVA. Os resultados demonstram que os íons NH_4^+ e HPO_4^{2-} mostraram um efeito negativo na remoção da estrogenicidade, atribuída a forte adsorção desses íons sobre o fotocatalisador. Entretanto, matéria orgânica dissolvida demonstrou ser o fator mais importante na inibição fotocatalítica para remoção da atividade estrogênica, ficando demonstrado que a fração da matéria orgânica dissolvida contendo ácidos húmicos e fúlvicos não somente inibe a remoção fotocatalítica da atividade estrogênica, mas também é responsável por um aumento temporário da atividade estrogênica durante o processo. Completa remoção da atividade estrogênica foi obtida após 180 minutos de tratamento das amostras.

Esses resultados comprovam o efeito de competição do meio pela absorção dos fótons incidentes, bem como a necessidade de prolongar o tratamento fotocatalítico de amostras reais além do tempo necessário para remoção dos estrogênios, caso se deseje remover os subprodutos gerados.

5.5.2 Tratamento de estrógenos em amostras de esgoto em reator solar (CPC)

As mesmas condições iniciais de coleta e fortificação de amostras usadas no processo de tratamento de esgoto com TiO_2 foram aplicadas nos ensaios em reator CPC com radiação solar. As condições de operação do reator CPC foram análogas às condições usadas para soluções aquosas em processos Fenton homogêneo.

Os resultados (Figura 70) demonstraram uma rápida remoção de E2 pelo processo Fenton preliminar (T30), enquanto que a remoção de E1 e EE2 foi da ordem de 80%, após quatro passagens pela unidade fotoquímica.

O acompanhamento das concentrações de peróxido e de formas solúveis de ferro (Figura 71) seguiu a tendência dos processos Fenton usuais, com pouco consumo de peróxido e rápida transformação do ferro II em ferro III. Esses resultados estão de acordo com as condições da degradação.

Em nosso sistema de batelada por recirculação a amostra fica armazenada em ambiente sem luz, passando por um curto período de tempo pelo reator, 3 minutos, e retornando para um ambiente isento de luz até a completa passagem da amostra. Durante o período que permanece no ambiente isento de luz (aproximadamente 17 minutos) como ainda há peróxido e ferro disponíveis, continua ocorrendo processo Fenton e a consequente formação de íons férricos. Como a cinética de regeneração dos íons ferrosos é mais lenta que o processo de oxidação do ferro, o que se observa é um contínuo aumento da concentração dos íons férricos e diminuição dos íons ferrosos.

Em amostras aquosas, os radicais hidroxilas gerados no processo eram consumidos pelos hormônios e seus subprodutos, levando à quase completa degradação dos hormônios após 4 passagens pelo reator CPC (Figura 49). Nas amostras de esgoto, devido à competição existente entre os hormônios e as substâncias orgânicas e inorgânicas presentes na matriz, esse processo atingiu 80% de degradação no mesmo período.

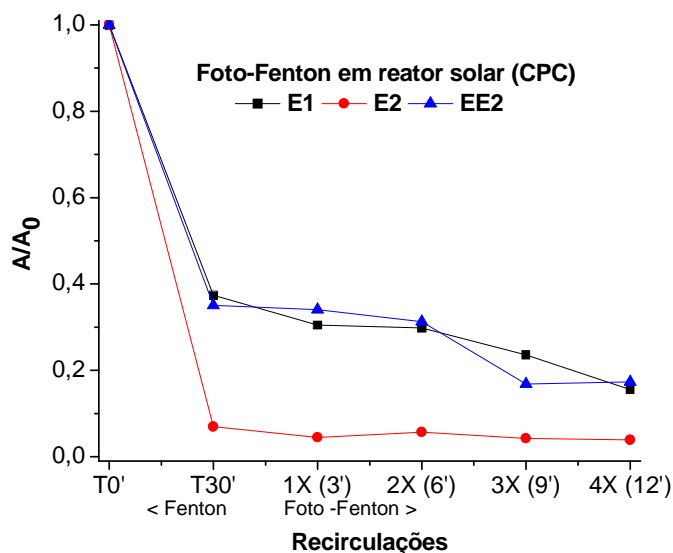


Figura 70. Tratamento de amostra de efluente da ETE B, fortificada com E1, E2 e EE2, por sistema Fenton, em reator solar CPC. 10 L de solução. (Condições iniciais: 15 mg L⁻¹ de Fe²⁺, 150 mg L⁻¹ de H₂O₂ e pH 3,0, fortificação 50,0 µg L⁻¹ de E1, E2 e EE2).

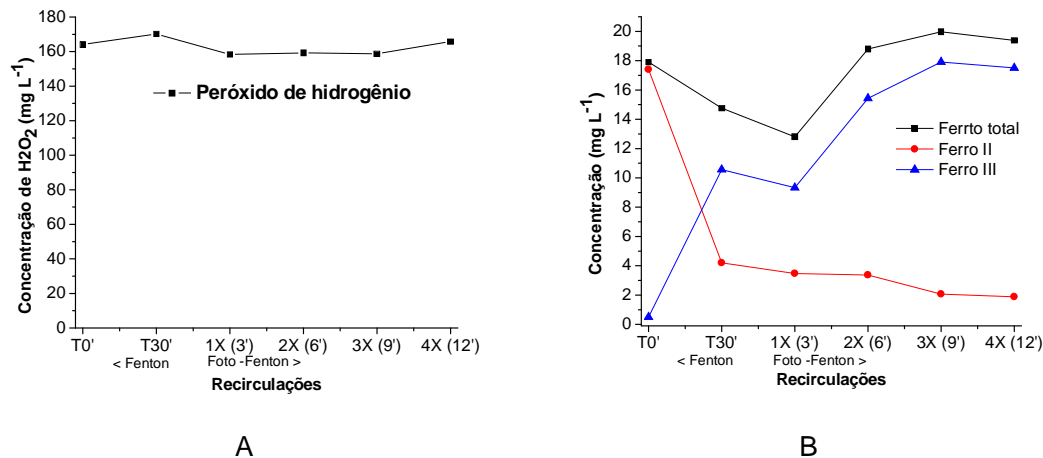


Figura 71. Acompanhamento das concentrações de H₂O₂ (A) e das espécies de ferro (B) durante o tratamento por sistema Fenton, em reator solar (CPC) de amostra de efluente da ETE B, fortificada com E1, E2 e EE2 (50,0 µg L⁻¹). 10 L de solução. (Condições iniciais: 15 mg L⁻¹ de Fe²⁺, 150 mg L⁻¹ de H₂O₂ e pH 3,0).

Em relação à queda inicial do ferro total, com posterior regeneração da sua concentração, Zapata *et al.* (2010) estudaram a degradação de cinco pesticidas em matriz de esgoto através de foto-Fenton solar em reator CPC. Eles observaram uma diminuição da concentração de ferro, atribuída à precipitação de hidróxidos férricos que iniciam o processo de precipitação entre pH 2,5 – 3,5. Além disso, os autores constataram que maiores temperaturas favorecem a precipitação do ferro, porém aumentam a velocidade inicial da reação, compensando a diminuição da quantidade de ferro disponível, mas prejudicam o processo de mineralização final do meio.

Em estudos de degradação por processo Fenton, em amostras de ETE contendo fármacos e produtos de higiene pessoal, Li *et al.* (2012), também observaram rápida degradação dos analitos e remoção de aproximadamente 17% do carbono orgânico dissolvido nos primeiros 4 minutos de tratamento, atingindo 25% após 30 minutos. Nos primeiros 20 minutos de reação foi detectada a formação de subprodutos de cadeias menores com aldeídos e cetonas alcançando $140 \mu\text{g L}^{-1}$, e oxalato, acetato e formiato atingindo 1,7, 1,2 e $1,2 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente. A detecção de estruturas menores derivadas de ácidos ajuda a manter o pH baixo e a complexar os íons ferro, acelerando a velocidade de degradação. Segundo Huang e Huang (2009) com o início do processo de mineralização esses íons voltam para a solução, aumentando a quantidade de ferro total.

Os estudos de Frontistis *et al.* (2011) também demonstram a eficiência dos processos foto-Fenton na degradação de EE2 ($200 \mu\text{g L}^{-1}$) em amostras de esgoto fortificadas, utilizando-se luz solar simulada, com completa remoção do estrogênio em 15 min de tratamento. Sob condições Fenton a remoção de EE2 variou entre 67% e 82% nos primeiros 7 minutos de reação, relacionado às condições de Fe^{2+} e H_2O_2 testadas, sendo que após este tempo praticamente não houve variação na concentração do EE2. Em relação à matéria orgânica presente na matriz, após 180 minutos de exposição os autores constataram 15% de mineralização pelo processo Fenton e 50% no processo foto-Fenton, demonstrando a melhor eficiência do processo foto-Fenton, bem como a necessidade de tempos maiores de reação para alcançar melhores resultados de mineralização.

Entretanto, é importante salientar que o monitoramento da estrogenicidade permitiu constatar significativo aumento desta característica nos primeiros 5 min de tratamento, atribuído por Frontistis *et al.* (2011) à formação de intermediários mais estrogênicos do que os compostos de partida, com limitada redução da estrogenicidade inicial mesmo após 60 minutos de tratamento.

Cabe ressaltar que estudos de fotocatalise empregando TiO_2 em amostras naturais expostas a luz solar indicaram que o aumento de estrogenicidade está associada à degradação da matéria orgânica presente no meio (ZHANG *et al.*, 2012).

Klamerth *et al.* (2010) estudaram a degradação de 15 micropoluentes em reator solar CPC por associação de processos Fenton e foto-Fenton, em amostras de efluente tratado. As amostras foram levemente acidificadas (pH ~ 5,8) para remoção de carbonatos e bicarbonatos, sequestrantes de radicais livres e, posteriormente, submetidas a 30 minutos de processos Fenton, para homogeneização dos reagentes, 5 mg L⁻¹ de Fe²⁺ e 50 mg L⁻¹ de H₂O₂, com posterior tratamento por exposição à luz solar por aproximadamente 4,5 horas. Eles observaram degradação superior à obtida com amostras laboratoriais de esgoto sintético fortificadas com os analitos de interesse (> 94%), porém com mesma taxa de redução do carbono orgânico dissolvido (~20%), atribuído a presença de ácidos húmicos na amostra natural. Além disso, testes de toxicidade realizados com *V. fischeri* demonstraram um aumento da toxicidade, atribuído à formação de intermediários mais tóxicos para testes no efluente quando comparado com o esgoto sintético, como consequência da matéria orgânica presente no meio.

Os resultados apresentados confirmam o potencial do tratamento por processos Fenton em reator solar CPC para tratamento de contaminantes em baixas concentrações, tanto em sistemas destinados para purificação de água como em efluentes de esgoto.

6 CONCLUSÕES

Para quantificação dos estrogênios em fase aquosa, métodos analíticos fundamentados em cromatografia em fase líquida de alta eficiência foram estabelecidos, utilizando-se detecção UV e de fluorescência. Em geral, foi observada uma excelente resolução entre os picos das espécies de interesse, uma adequada linearidade das curvas analíticas ($R > 99\%$) e limites de quantificação de 0,05 e 0,01 mg L⁻¹, para detecção UV e de fluorescência, respectivamente.

Um método de extração em fase sólida foi também estabelecido, recorrendo ao uso de fase sorbente de octadecilsílica (C18). Recuperações entre 88 e 104% foram observadas para E2, EE2 e E3 em concentrações da ordem de 0,01 µg L⁻¹, com desvios típicos entre 2 e 13%.

A análise de amostras de esgoto (bruto e tratado) por SPE/HPLC-Flu se mostrou bastante complexa, em função da presença de interferentes que apresentam forte emissão. Desta forma, somente foi possível a quantificação de E2 e EE2, sendo determinados valores de concentração coerentes com antecedentes da literatura.

Nos estudos de degradação em escala de bancada foi possível verificar uma elevada eficiência de degradação dos processos fotocatalíticos fundamentados no uso de TiO₂, em geral permitindo remoções da ordem de 80% em apenas 5 min de tratamento. O uso de radiação solar também proporcionou resultados favoráveis, permitindo remoção praticamente completa dos estrogênios em tempos de reação de 15 min. O uso de TiO₂ suportado em anéis de vidro permitiu uma eficiente remoção de estrogênios em solução aquosa em tratamentos de 60 min, o que representa uma promissora alternativa para a remediação contínua de resíduos contendo este tipo de poluentes.

Processos Fenton se mostraram pouco eficientes na degradação de estrogênios, mesmo sendo utilizados em fase homogênea. Entretanto, na sua versão foto-assistida, os processos homogêneos permitiram uma rápida degradação dos compostos alvo, em tratamento de aproximadamente 15 min. O uso de formas imobilizadas de ferro permitiu a degradação completa dos estrogênios em tratamentos de 60 min. Neste caso, estima-se que a degradação é uma função de mecanismos homogêneos e heterogêneos que ocorrem de maneira simultânea. O uso de formas imobilizadas de ferro em presença de luz solar apresentou bons resultados quando comparados com dados disponíveis na literatura, entretanto ainda precisa ser aprimorado para proporcionar alta eficiência em intervalos de tempo similares aos obtidos em ensaios de bancada.

O uso de reator solar tipo CPC permitiu elevada eficiência de degradação de estrogênios em amostras de esgoto por processos Fenton homogêneos. Elevada eficiência de degradação de estrogênios em amostras de esgoto também foi observada em escala de bancada empregando TiO₂ suportado em anéis de vidro.

Entretanto, estudos adicionais se fazem necessários para avaliar o uso de luz solar, principalmente no tratamento de amostras de efluente.

7 PERSPECTIVAS FUTURAS

Diversos estudos futuros podem contribuir para uma melhor compreensão dos processos discutidos neste trabalho. Além disso, alguns estudos ainda merecem atenção especial, dentre os quais pode-se destacar:

- Monitoramento sistemático de amostras de esgoto bruto e tratado para avaliar a presença dos estrogênios em águas da região de Curitiba.
- Estudos de degradação de estrogênios em amostras aquosas e efluentes tratados, empregando radiação solar, TiO_2 suportado e reatores de fluxo contínuo.
- Estudos de degradação em escala de bancada de estrogênios em amostras de efluentes tratados, empregando processos Fenton heterogêneos.
- Estudos de degradação de estrogênios em amostras aquosas e efluentes de esgoto utilizando-se novos modelos de reatores de fluxo contínuo.
- Realização de análises por LC-MS para identificação de subprodutos gerados nos processos de degradação e elucidação dos possíveis mecanismos de reação para os diferentes processos de degradação testados.

8 REFERÊNCIAS

- Abdel-Aziz, M.T.; Williams, K.I.H. Metabolism of radioactive 17α -ethynyloestradiol by women. *Steroids*, 15, **1970**, p. 695-710.
- Abdel-Fattah, W.I.; Jiang, T.; El-Bassyouni, G.E.T.; Laurencin, C.T. Synthesis, characterization of chitosans and fabrication of sintered chitosan microsphere matrices for bone tissue engineering. *Acta Biomater.*, 3, **2007**, p. 503-514.
- Aguiar, A.; Ferraz, A.; Contreras, D.; Rodríguez, J. Mecanismo e aplicações da reação de fenton assistida por compostos fenólicos redutores de ferro, *Quim. Nova*, 30, **2007**, p. 623-628.
- Ahmed, S.; Rasul, M.G.; Brown, R.; Hashib, M.A. Influence of parameters on the heterogeneous photocatalytic degradation of pesticides and phenolic contaminants in wastewater: A short review. *J. Environ. Manage.*, 92, **2011**, p. 311-330.
- Akyol, A.; Yatmaz, H.C.; Bayramoglu, M. Photocatalytic decolorization of Remazol Red RR in aqueous ZnO suspensions. *Appl. Catal., B*, 54, **2004**, p. 19-24.
- Akyol, A.; Bayramoglu, M. Photocatalytic degradation of Remazol Red F3B using ZnO catalyst. *J. Hazard. Mater.*, B, 124, **2005**, p. 241-246.
- Al-Rifai, J.H.; Gabelish, C.L.; Schäfer, A.I. Occurrence of pharmaceutically active and non-steroidal estrogenic compounds in three different wastewater recycling schemes in Australia. *Chemosphere*, 69, **2007**, p. 803-815.
- Alum, A.; Yoon, Y.; Westerhoff, P.; Abbaszadegan, M. Oxidation of bisphenol A, 17β -estradiol, and 17α -ethynyl estradiol and byproduct estrogenicity. *Environ. Toxicol.*, 19, **2004**, p. 257-264.
- Amorim, F.F. Remoção dos Contaminantes Orgânicos 17β -estradiol e Saxitoxinas (STX, Neo-STX e dC-STX) por meio de Nanofiltração: Avaliação em escala de Bancada. 2007. 133 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos), Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Brasília, Brasília, **2007**.
- Andreozzi, R.; Caprio, V.; Insola, A.; Marotta, R., Advanced oxidation processes (AOP) for water purification and recovery, *Catal. Today*, 53, **1999**, p. 51-59.
- Araújo, J.C. Estudo da eficiência do tratamento de efluentes domésticos da cidade de Araraquara-SP na remoção de hormônios sexuais. 2006. 86f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, **2006**.
- Atkinson, S.K.; Marlatt, V.L.; Kimpe, L.E.; Lean, D.R.S.; Trudeau, V.L.; Blais, J.M. Environmental factors affecting ultraviolet photodegradation rates and estrogenicity of estrone and ethinylestradiol in natural waters. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 60, **2011**, p. 1-7.

- Bahnemann, W.; Munner, M.; Haque, M.M. Titanium dioxide-mediated photocatalysed degradation of few selected organic pollutants in aqueous suspensions. *Catal. Today*, 124, **2007**, p. 133–148.
- Baker, D.R.; Kasprzyk-Hordern, B. Critical evaluation of methodology commonly used in sample collection, storage and preparation for the analysis of pharmaceuticals and illicit drugs in surface water and wastewater by solid phase extraction and liquid chromatography–mass spectrometry *J. Chromatogr. A*, 1218, **2011**, p. 8036-8059.
- Bansal, P.; Sud, D. Photodegradation of commercial dye, Procion Blue HERD from real textile wastewater using nanocatalysts. *Desalination*, 267, **2011**, p. 244–249.
- Baronti, C.; Curini, R.; D'Ascenzo, G.; Corcia, A.D.; Gentili, A.; Samperi, R. Monitoring natural and synthetic estrogens at activated sludge sewage treatment plants and in a receiving river water. *Environ. Sci. Technol.*, 34, **2000**, p. 5059-5066.
- Behnajady, M.A.; Modirshahla, R. Hamzavi, R. Kinetic study on photocatalytic degradation of C.I. Acid Yellow 23 by ZnO photocatalyst. *J. Hazard. Mater.*, B, 133, **2006**, p. 226-232.
- Belfroid, A.C.; Van der Horst, A.; Vethaak, A.D.; Schäfer, A.J.; Rijs, G.B.J.; Wegener, J.; Cofino, W.P. Analysis and occurrence of estrogenic hormones and their glucuronides in surface water and waste water in The Netherlands. *Sci. Total Environ.*, 225, **1999**, p. 101-108.
- Belgiorno, V.; Rizzoa, L.; Fatta, D.; Roccaa, C.D.; Lofranoa, G.; Nikolaouc, A.; Naddeo, V.; Meric, S. Review on endocrine disrupting-emerging compounds in urban wastewater: occurrence and removal by photocatalysis and ultrasonic irradiation for wastewater reuse. *Desalination*, 215, **2007**, p. 166-176.
- Benotti, M.J.; Stanford, B.D.; Wert, E.C.; Snyder, S.A. Evaluation of a photocatalytic reactor membrane pilot system for the removal of pharmaceuticals and endocrine disrupting compounds from water. *Water Res.*, 43, **2009**, p. 1523-1522.
- Bila, D.M.; Dezotti, M. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: Efeitos e consequências. *Quím. Nova*, 30, **2007a**, p.651-666.
- Bila, D.; Montalvão, A.F.; Azevedo, D.A.; Dezotti, M. Estrogenic activity removal of 17 β -estradiol by ozonation and identification of by-products. *Chemosphere*, 69, **2007b**, p. 736–746.
- Bobu, M., Yediler, A., Siminiceanu, I., Schulte-Hostede, S. Degradation studies of ciprofloxacin on a pillared iron catalyst. *Appl. Catal.*, B, 83, **2008**, p. 15-23.
- Bolong, N.; Ismaila, A.F.; Salimb, M. R.; Matsuurad, T. A review of the effects of emerging contaminants in wastewater and options for their removal. *Desalination*, 239, **2009**, p. 229-246.

- Bourcier, S.; Poisson, C.; Souissi, Y.; Kinani, S.; Bouchonnet, S.; Sablier, M. Elucidation of the decomposition pathways of protonated and deprotonated estrone ions: application to the identification of photolysis products. *Rapid. Commun. Mass. Spectrom.*, 24, **2010**, p. 2999–3010.
- Braga, O.; Smythe, G. A.; Schafer Feitz, A. J. Fate of steroid estrogens in Australian inland and coastal wastewater treatment plants. *Environ. Sci. Technol.*, 39, **2005**, p. 3351-3358.
- Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA); Resolução RE nº 899, de 29/05/**2003**.
- Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária; Seleção, uso e interpretação de programas de ensaios de proficiência (EP) por laboratórios - 2000. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. – Brasília : Ministério da Saúde, **2006**.
- Broséus, R.; Vincent, S.; Aboulfad, K.; Daneshvar, A. ; Suavé, S. ; Barbeau, B. ; Prévost, M. Ozone oxidation of pharmaceuticals, endocrine disruptors and pesticide during drinking water treatment. *Water Res.*, 43, **2009**, p. 4707–4717.
- Campbell, C.G.; Borglin, S.E.; Green, F.B.; Grason, A.; Wozel, E.; Stringfellow, W.T. Biologically directed environmental monitoring, fate, and transport of estrogenic endocrine disrupting compounds in water: a review. *Chemosphere*, 65, **2006**, p. 1265-1280.
- Candal, R.J., Bilmes, S.A., Blesa, M.A., In: *Eliminación de Contaminantes por Fotocatálisis Heterogénea*, Capítulo 4: Semiconductores con actividad fotocatalítica, **2001**.
- Cargouet, M.; Perdiz, D.; Asmaa, M. S.; Sara, T. K.; Levi, Y. Assessment of river contamination by estrogenic compounds in Paris area (France). *Sci. Total Environ.*, 324, **2004**, p.55-66.
- Carp, O.; Huisman, C.L.; Reller, A. Photoinduced reactivity of titanium dioxide. *Prog. Solid State Chem.*, 32, **2004**, p. 33-177.
- Carra, I.; López, J.L.C.; Santos-Juanes, L.; Malato, S.; Pérez, J.A.S. Iron dosage as a strategy to operate the photo-Fenton process at initial neutral pH. *Chem. Eng. J.*, **2012**, <http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2012.09.065>
- Cartinella, J.L.; Cath, T.Y.; Flynn, M.T.; Meller, G. C.; Hunter, K. W.; Childress, A. E. Removal of natural steroid hormones from wastewater using membrane contactor processes. *Environ. Sci. Technol.*, 40, **2006**, p. 7381-7386.
- Cassiano, N.M.; Barreiro, J.C.; Martins, L.R.R.; Oliveira, R.V.; Cass, Q.B. Validação em métodos cromatográficos para análises de pequenas moléculas em matrizes biológicas. *Quim. Nova*, 32, **2009**, p. 1021-1030.

- Catrinescu, C.; Arsene, D.; Apopei, P.; Teodosiu, C. Degradation of 4-chlorophenol from wastewater through heterogeneous Fenton and photo-Fenton process, catalyzed by Al-Fe PILC. *Appl. Clay Sci.*, 58, **2012**, p. 96-101.
- Caupos, E.; Mazellier, P.; Croue, J.-P. Photodegradation of estrone enhanced by dissolved organic matter under simulated sunlight. *Water Res.*, 45, **2011**, p. 3341-3350.
- Chang, S.; Wait, D.T.; Schafer, A. I.; Fane, A. G. Adsorption of the endocrine-active compound estrone on micro-filtration hollow fiber membranes. *Environ. Sci. Technol.*, 37, **2003**, p. 3158-3163.
- Chatterjee, S.; Chatterjee, S.; Chatterjee, B.P.; Guha, A.K. Adsorptive removal of congo red, a carcinogenic textile dye by chitosan hydrobeads: Binding mechanism, equilibrium and kinetics. *Colloids Surf., A*, 299, **2007**, p. 146-152.
- Chen, R.; Pignatello, J.J. Role of quinone intermediates as electron shuttles in Fenton and photoassisted Fenton oxidations of aromatic compounds. *Environ. Sci. Technol.*, 31, **1997**, p. 2399-2406.
- Chen, D.; Li, F.; Ray, A.K. External and internal mass transfer effect on photocatalytic degradation. *Catal. Today*, 66, **2001**, p. 475-485.
- Chen, F.; Ma, W.; He, J.; Zhao, J. Fenton degradation of malachite green catalyzed by aromatic additives. *J. Phys. Chem., A*, 106, **2002**, p. 9485-9490.
- Chen, J.L.; Ravindran, S.; Swift, S.; Wright, L.J.; Singhal, N. Catalytic oxidative degradation of 17 α -ethinylestradiol by Fe^{III}-TAML/H₂O₂: Estrogenicities of the products of partial, and extensive oxidation. *Water Res.*, 46, **2012**, p. 6309-6318.
- Chowdhury, R.R.; Charpentier, P.; Ray, M.B. Photodegradation of Estrone in Solar Irradiation. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 49, **2010**, p. 6923-6930.
- Chowdhury, R.R.; Charpentier, P.A.; Ray, M.B. Photodegradation of 17 β -estradiol in aquatic solution under solar irradiation: Kinetics and influencing water parameters. *J. Photochem. Photobiol., A*, 219, **2011**, p. 67-75.
- Clara, M.; Kreuzinger, N.; Strenn, B.; Gans, O.; Kroiss, H. The solids retention time – a suitable design parameter to evaluate the capacity of wastewater treatment plants to remove micropollutants. *Water Res.*, 39, **2005**, p. 97-106.
- Coleman, H.M.; Eggins, B.R.; Byrne, J.A.; Palmer, F.L.; King, E. Photocatalytic degradation of 17 β -estradiol on immobilized TiO₂. *Appl. Catal., B*, 24, **2000**, p. L1-L5.
- Coleman, H.M.; Routledge, E.J.; Sumpter, J.P.; Eggins, B.R.; Byrne, J.A. Rapid loss of estrogenicity of steroid estrogens by UVA photolysis and photocatalysis over an immobilised titanium dioxide catalyst. *Water Res.*, 38, **2004**, p. 3233-3240.

- Coleman, H.M.; Abdullah, M.I.; Eggins, B.R.; Palmer, F.L.. Photocatalytic degradation of 17 β -oestradiol, oestriol and 17 α -ethynyloestradiol in water monitored using fluorescence spectroscopy. *Appl. Catal., B*, 55, **2005a**, p.23-30.
- Coleman, H.M.; Chiang, K.; Amal, R. Effects of Ag and Pt on photocatalytic degradation of endocrine disrupting chemicals in water. *Chem. Eng. J.*, 113, **2005b**, p. 65-72.
- Coleman, H.M.; Vimonses, V.; Leslie, G.; Amal, R. Removal of contaminants of concern in water using advanced oxidation techniques. *Water Sci. Technol.*, 55, **2007**, p. 301-306.
- CONAMA – (Conselho Nacional do Meio Ambiente). Resolução nº 430, de 13 de maio de 2011 - complementa e altera a Resolução nº 357/2005.
- Cordeiro, A.C.S.; Arouca, S.; Leite, S.G.F.; Dezotti, M. Inativação por oxidação fotocatalítica de *escherichia coli* e *pseudomonas* sp. *Quim. Nova*, 27, **2004**, p. 689-694.
- Couto, S.R.; Domínguez, A.; Sanromán, A. Photocatalytic degradation of dyes in aqueous solution operating in a fluidised bed reactor. *Chemosphere*, 46, **2002**, p. 83-86.
- D'Ascenzo, G.; Corcia, A. D.; Gentili, A.; Mancini, R.; Nazzari, R. M. M.; Samperi, R. Fate of natural estrogen conjugates in municipal sewage transport and treatment facilities. *Sci. Total Environ.*, 302, **2003**, p. 199-209.
- DeMarco, M.J.; SenGupta, A.K.; Greenleaf, J.E. Arsenic removal using a polymeric/inorganic hybrid sorbent. *Water Res.*, 37, **2003**, p. 164-176.
- Desbrow, C.; Routledge, E.J.; Brighty, G.C.; Sumpter, J.P.; Waldock, M. Identification of estrogenic chemicals in STW effluent. 1. Chemical fractionation and in vitro biological screening. *Environ. Sci. Technol.*, 32, **1998**, p.1549-1558.
- Diaz, M.; Luiz, M.; Alegretti, P.; Furlong, J.; Amat-Guerri, F.; Massad, W.; Criado, S.; Garcia, N.A.; Visible-light-mediated photodegradation of 17 β -estradiol: Kinetics, mechanism and photoproducts. *J. Photochem. Photobiol., A*, 202, **2009**, p. 221-227.
- Dindar, B.; Içli, S. Unusual photoreactivity of zinc irradiated by concentrated sunlight. *J. Photochem. Photobiol., A*, 140, **2001**, p. 263 – 268.
- Doll, T.E.; Frimmel, F.H. Kinetic study of photocatalytic degradation of carbamazepine, clofibric acid, iomeprol and iopromide assisted by different TiO₂ materials—determination of intermediates and reaction pathways. *Water Res.*, 38, **2004**, p. 955–964.
- Dopar, M.; Kusic, H.; Koprivanac, N. Treatment of simulated industrial wastewater by photo-Fenton process. Part I: The optimization of process parameters using design of experiments (DOE). *Chem. Eng. J.*, 173, **2011**, p. 267-279.
- Drewes, J. E.; Hemming, J.; Ladenburger, S.J.; Schaaue, J.; Sonzogni, W. An assessment of endocrine disrupting activity changes during wastewater treatment

- through the use of bioassays and chemical measurements. *Water Environ. Res.*, 77, **2005**, p. 12-23.
- Du, X.; Wang, X.; Li, Y.; Ye, F.; Dong, Q.; Huang, C. Determination of estrone and 17 β -estradiol in water samples using dispersive liquid–liquid microextraction followed by LC. *Chromatographia*, 71, **2010**, p. 405-410.
- Elmolla, E.S.; Chaudhuri, M. Degradation of amoxicillin, ampicillin and cloxacillin antibiotics in aqueous solution by the UV/ZnO photocatalytic process. *J. Hazard. Mater.*, 173, **2010**, p. 445–449.
- Escher, B.I.; Fenner, K. Recent advances in environmental risk assessment of transformation products. *Environ. Sci. Technol.*, 45, **2011**, p. 3835–3847.
- Feng, J., Hu, X., Yue, P.L., Zhu, H.Y., Lu, G.Q. Degradation of azo-dye Orange II by a photo-assisted Fenton reaction using a novel composite of iron oxide and silicate nanoparticles as a catalyst. *Ind. Eng. Chem. Res.* 42, **2003**, p. 2058–2066.
- Feng, X.; Ding, S.; Tu, J.; Wu, F.; Deng, N. Degradation of estrone in aqueous solution by photo-Fenton system. *Sci. Total Environ.*, 345, **2005a**, p. 229-237.
- Feng, X.; Tu, J.; Ding, S.; Wu, F.; Deng, N. Photodegradation of 17 β -estradiol in water by UV–vis/Fe(III)/H₂O₂ system. *J. Hazard. Mater.*, B127, **2005b**, p. 129-133.
- Feng, J., Hu, X., Yue, P.L., Qiao, S. Photo-Fenton degradation of high concentration Orange II (2 mM) using catalysts containing Fe: a comparative study. *Sep. Purif. Technol.* 67, **2009**, p. 213–217.
- Fernandez, M.P.; Ikonou, M.G.; Buchanan, I. An assessment of estrogenic organic contaminant in Canadian wastewaters. *Sci. Total. Environ.*, 373, **2007**, p. 250-269.
- Ferreira, M.G. M. Remoção da atividade estrogênica de 17 β -estradiol e de 17 α -etinilestradiol pelos processos de ozonização e O₃/H₂O₂. 2008. 173 f. Tese (Doutorado em Ciências em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, **2008**.
- Fine, D.D.; Breidenbach, G.P.; Price, T.L.; Hutchins, S.R. Quantitation of estrogens in ground water and swine lagoon samples using solid-phase extraction, pentafluorobenzyl /trimethylsilyl derivatizations and gas chromatography–negative ion chemical ionization tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr., A*, 1017, **2003**, p. 167-185.
- Fiori, S. Remoção seletiva de níquel (II) em cápsulas de quitosana/álcool polivinílico adsorvido com agente quelante dimetilglioxima. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis: UFSC, **1996**.

- Freitas, Adriane M. Utilização de processos oxidativos avançados para remediação de águas contaminadas por toxinas produzidas por cianobactérias. 2008. 116 f. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Universidade Federal do Paraná, Paraná, **2008**.
- Frontistis, Z.; Xekoukoulotakis, N.P.; Hapeshi, E.; Venieri, D.; Fatta-Kassinos, D.; Mantzavinos, D. Fast degradation of estrogen hormones in environmental matrices by photo-Fenton oxidation under simulated solar radiation. *Chem. Eng. J.*, 178, **2011**, p. 175-182.
- Frontistis, Z.; Daskalaki, V.M.; Hapeshi, E.; Drosou, C.; Fatta-Kassinos D.; Xekoukoulotakis, N.P.; Mantzavinos, D. Photocatalytic (UV-A/TiO₂) degradation of 17 α -ethynylestradiol in environmental matrices: Experimental studies and artificial neural network modeling. *J. Photochem. Photobiol., A*, 240, **2012**, p. 33-41.
- Gabet, V.; Miège, C.; Bados, P.; Coquery, M. Analysis of estrogens in environmental matrices. *TrAC, Trends Anal. Chem.*, 26, **2007**, p. 1113-1131.
- Gamblin, B.E.; Stevens, J.G.; Wilson, K.L. Structural investigations of chitin and chitosan complexed with iron or tin. *Hyperfine Interactions*, 112, **1998**, p. 117-122.
- Gao, Y.; Liu, H. Preparation and catalytic property study of a novel kind of suspended photocatalyst of TiO₂-activated carbon immobilized on silicone rubber film. *Mater. Chem. Phys.*, 92, **2005**, p. 604-608.
- Gartner, M.; Scurtu, R.; Ghita, A.; Zaharescu, M.; Modreanu, M. Trapalis, C.; Kokkoris, M.; Kordas, G. Spectroellipsometric characterization of sol-gel TiO₂-CuO thin coatings. *Thin Solid Films*, 455-456, 2004, 417-421
- Garcia-Prieto, A.; Lunar, L.; Rubio, S.; Pérez-Bendito, D. Hemimicelle-based solid-phase extraction of estrogens from environmental water samples. *Analyst*, 131, **2006**, p. 407-414.
- GARP - Associação Grupo de Analistas de Resíduos de Pesticidas; Manual de Resíduos de Pesticidas em Alimentos (apostila), **1999**.
- Gaya, U.I.; Abdullah, A.H.; Hussein, M.Z.; Zainal, Z. Photocatalytic removal of 2,4,6-trichlorophenol from water exploiting commercial ZnO powder. *Desalination*, 263, **2010**, p. 176-182.
- George, M.; Abraham, T.E. Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: alginate e chitosan – a review. *J. Control. Release*, 114, **2006**, p. 1-14.
- Gernjak, W.; Fuerhacker, M.; Fernández-Ibañez, P.; Blanco, J.; Malato, S. Solar photo-Fenton treatment – Process parameters and process control. *Appl. Catal., B*, 64, **2006**, p. 121-130.
- Ghiselli, G.; Jardim, W. Interferentes endócrinos no ambiente. *Quim. Nova*, 30, **2007**, p. 695-706.

- Gibson, R.; Becerril-Bravo, E.; Silva-Castro, V.; Jiménez, B. Determination of acidic pharmaceuticals and potential endocrine disrupting compounds in wastewaters and spring waters by selective elution and analysis by gas chromatography–mass spectrometry. *J. Chromatogr., A*, 1169, **2007**, p 31–39.
- Giraldo, L.F.G.; Franco, E.A.M.; Arango, J.J.S. La fotocatalisis como alternativa para el tratamiento de aguas residuales. *Revista Lasallista de investigacion*, 1, **2001**, p. 83-92.
- Giroto, G.; Nogueira, K.L.; Moura, J.A.; Souza, J.B.; Giacometti, L.L.; Marchi, M.R.R.; Tognolli, J. O. Estrógenos em água: otimização da extração em fase sólida utilizando ferramentas quimiométricas. *Ecl. Quím.*, 32, **2007**, p. 61-67.
- González-Bahamón, L.F.; Mazille, F.; Benítez, L.N.; Pulgarín, C. Photo-Fenton degradation of resorcinol mediated by catalysts based on iron species supported on polymers. *J. Photochem. Photobiol., A*, 217, **2011a**, p. 201-206.
- González-Bahamón, L.F.; Hoyos, D.F.; Benítez, N.; Pulgarín, C. New Fe-immobilized natural bentonite plate used as photo-Fenton catalyst for organic pollutant degradation. *Chemosphere*, 82, **2011b**, p. 1185-1189.
- Görög, S. Advances in the analysis of steroid hormone drugs in pharmaceuticals and environmental samples (2004–2010). *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 55, **2011**, p. 728-743.
- Gouvêa, C.A.K.; Wypych, F.; Moraes, S.G.; Duran, N.; Nagata, N.; Peralta-Zamora, P. Semiconductor-assisted photocatalytic degradation of reactive dyes in aqueous solution. *Chemosphere*, 40, **2000**, p. 433-440.
- Gromboni, C.F.; Ferreira, A.G.; Kamogawa, M.Y., Nogueira, A.R.A. Avaliação da reação foto-Fenton na decomposição de resíduos de carrapaticida, *Quim Nova*, 30, **2007**, p. 264-267.
- Grela, M.A.; Loeb, B.; Restrepo, G.M.; Lagorio M.G.; San Román, E. Eliminación de contaminantes por fotocatalisis heterogénea, Capítulo 5 Los mecanismos de destrucción de contaminantes orgánicos, **2001**.
- Han, H.; Qiu, W.; Gao, W. Adsorption of estrone in microfiltration membrane filters. *Chem. Eng. J.*, 165, **2010**, p. 819–826.
- Han, J.; Qiu, W.; Hu, J.; Gao, W. Chemisorption of estrone in nylon microfiltration membranes: Adsorption mechanism and potential use for estrone removal from water. *Water Res.*, 46, **2012**, p. 873-881.
- Han, J.; Liu, Y.; Singhal, N.; Wang, L.; Gao, W. Comparative photocatalytic degradation of estrone in water by ZnO and TiO₂ under artificial UVA and solar irradiation. *Chem. Eng. J.*, 213, **2012**, p. 150-162.
- He, J.; Ma, W.; He, J.; Zhao, J.; Yu, J.C. Photooxidation of azo dye in aqueous dispersions of H₂O₂/α-FeOOH. *Appl. Catal., B*, 39, **2002**, p. 211-220.

- He, J.; Ma, W.; Song, W.; Zhao, J.; Qian, X.; Zhang, S.; Yu, J.C. Photoreaction of aromatic compounds at α -FeOOH/H₂O interface in the presence of H₂O₂: evidence for organic-goethite surface complex formation. *Water Res.*, 39, **2005**, p. 119-128.
- Henderson, M.A. A surface science perspective on TiO₂ photocatalysis. *Surf. Sci. Rep.*, 66, **2011**, p. 185-297.
- Hermann, J.M.; Guillard, C.; Pichat, P. Heterogeneous photocatalysis: an emerging technology for water treatment. *Catal. Today*, 17, **1993**, p. 7-20.
- Herrera, F.; Pulgarin, C.; Nadtochenko, V.; Kiwi, J. Accelerated photo-oxidation of concentrated p-coumaric acid in homogeneous solution. Mechanistic studies, intermediates and precursors formed in the dark. *Appl. Catal.*, B, 17, **1998**, p. 141-156.
- Hohenblum, P.; Gans, O.; Moche, W.; Scharf, S.; Lorbeer, G. Monitoring of selected estrogenic hormones and industrial chemicals in groundwaters and surface waters in Austria. *Sci. Total. Environ.*, 333, **2004**, p. 185-193.
- Hosogia, J.; Tanaka, H.; Fujita, K.; Kuwabara, T.; Ikegawa, S.; Kobayashi, N.; Manod, N.; Goto, J. LC-MS/MS coupled with immunoaffinity extraction for determination of estrone, 17 α -estradiol and estrone 3-sulfate in human plasma. *J. Chromatogr. B*, 878, **2010**, p. 222-227.
- Huang, C-H.; Huang, Y-H. Comparison of catalytic decomposition of hydrogen peroxide and catalytic degradation of phenol by immobilized iron oxides. *Appl. Catal.*, A, 346, **2008**, p. 140-148.
- Huang, C-H.; Huang, Y-H. Application of an active immobilized iron oxide with catalytic H₂O₂ for the mineralization of phenol in a batch photo-fluidized bed reactor. *Appl. Catal.*, A, 357, **2009**, p. 135-141.
- Huang, Y.-H.; Huang, Y.-J.; Tsai, H.-C.; Chen, H.-T. Degradation of phenol using low concentration of ferric ions by the photo-Fenton process. *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.*, 41, **2010**, p. 699-704.
- Huber, M.M.; Canonica, S.; Park, G.Y.; von Gunten, U. Oxidation of pharmaceuticals during ozonation and advanced oxidation processes. *Environ. Sci. Technol.*, 37, **2003**, p. 1016-1024.
- Huber, M. M.; Ternes, T. A.; von Gunten, U. Removal of estrogenic activity and formation of oxidation products during ozonation of 17 α -ethinylestradiol. *Environ. Sci. Technol.*, 38, **2004**, p. 5177-5186.
- Huber, M.M.; Gobel, A.; Joss, A.; Hermann, N.; Löffler, D.; Mcardell, C.S.; Ried, A.; Siegrist, H.; Ternes, T.A.; von Gunten, U. Oxidation of pharmaceuticals during ozonation of municipal wastewater effluents: a pilot study. *Environ. Sci. Technol.*, 39, **2005**, p. 4290-4299.

- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa Nacional de Saneamento Básico, **2008**. Disponível em www.ibge.gov.br. Acessado em setembro de 2010.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa Nacional de Saneamento Básico, **2000**. Disponível em www.ibge.gov.br. Acessado em agosto de 2008.
- ICH Harmonised Tripartite Guideline Text On Validation Of Analytical Procedures, **1995**.
- Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO); Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaios Químicos, DOQ-CGCRE-008, **2003**.
- Irmak, S.; Erbatur, O.; Akgerman, A. Degradation of 17 β -estradiol and bisphenol A in aqueous medium by using ozone and ozone/UV techniques. J. Hazard. Mater., 126, **2005**, p. 54-62.
- ISO 6332:1998, Water Quality – Determination of Iron – Epectrometric Method Using 1,10-Phenanthroline, 1998.
- Isobe, T.; Shiraishia, H.; Yasudab, M.; Shinodab, A.; Suzuki, H.; Morita, H.; Determination of estrogens and their conjugates in water using solid-phase extraction followed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. J Chromatogr., A, 984, **2003**, p. 195-202.
- Janex-Habibi, M.L.; Huyard, A.; Esperanza, M.; Bruchet, A. Reduction of endocrine disruptor emissions in the environment: The benefit of wastewater treatment. Water Res., 43, **2009**, p. 1565-1576.
- Jardim, W.F.; Montagner, C.C.; Pescara, I.C.; Umbuzeiro, G.A.; Bergamasco, A.M.D.D.; Eldridge, M.L.; Sodr , F.F. An integrated approach to evaluate emerging contaminants in drinking water. Sep. Purif. Technol., 84, **2012**, p. 3-8.
- Jeong, J.; Yoon, J. pH effect on OH radical production in photo/ferrioxalate system. Water Res., 39, **2005**, p. 2893–2900.
- Jermann, D.; Pronk, W.; Boller, M.; Schäfer, A.I. The role of NOM fouling for the retention of estradiol and ibuprofen during ultrafiltration J. Membr. Sci., 329, **2009**, p. 75-84.
- Jin, X.; Hu, J.Y.; Tint, M.L.; Ong, S.L.; Biryulin, Y.; Polotskaya, G. Estrogenic compounds removal by fullerene-containing membranes. Desalination, 214, **2007**, p. 83-90.
- Jobling, S.; Nolan, M.; Tyler, C.R.; Brighty, G.; Sumpter, J.P. Widespread Sexual Disruption in Wild Fish . Environ. Sci. Technol., 32, **1998**, p. 2498-2506.
- Johnson, A.C.; Belfroid, A.; Di Corcia, A. Estimating steroid oestrogen inputs into activated sludge treatment works and observations on their removal from the effluent. Sci. Total Environ., 256, **2000**, p. 163-173.
- Johnson, A.C.; Williams, R.J.; Simpson, P.; Kanda, R. What difference might sewage treatment performance make to endocrine disruption in rivers. Environ. Pollut., 147, **2007**, p. 194-202.

- Jones, O.A.H.; Voulvoulis, N.; Lester, J.N.; Human pharmaceuticals in wastewater treatment processes. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.*, 35, **2005**, p. 401-427.
- Jørgensen, S.E.; Sørensen, B.H.; Drugs in the environment. *Chemosphere*, 40, **2000**, p. 691-699.
- Kansal, S.K.; Singh, M.; Sud, D. Studies on photodegradation of two commercial dyes in aqueous phase using different photocatalysts. *J. Hazard. Mater.*, 141, **2007**, 581-590.
- Kansal, S.K.; Singh, M.; Sud, D. Studies on TiO_2/ZnO photocatalysed degradation of lignin. *J. Hazard. Mater.*, 153, **2008**, 412-417.
- Karpova, T.; Preis, S.; Kallas, J. Selective photocatalytic oxidation of steroid estrogens in the presence of copollutants in the sanitary fraction of domestic sewage. *Int. J. Photoenergy*, **2007**, p. 1-8.
- Khataee, A.R.; Pons, M.N.; Zahraa, O. Photocatalytic degradation of three azo dyes using immobilized TiO_2 nanoparticles on glass plates activated by UV light irradiation: Influence of dye molecular structure. *J. Hazard. Mater.*, 168, **2009**, p. 451-457.
- Keunckharian, S.; Reta, M.; Romero, L.; Castells, C. Effect of sample solvent on the chromatographic peak shape of analytes eluted under reversed-phase liquid chromatographic conditions. *J. Chromatogr. A*, 1119, **2006**, p. 20-28.
- Kim, S.; Choi, W. Kinetics and mechanisms of photocatalytic degradation of $(\text{CH}_3)_n\text{NH}_{(4-n)}^+$ ($0 \leq n \leq 4$) in TiO_2 suspension: the role of OH radicals. *Environ. Sci. Technol.*, 36, **2002**, p. 2019-2025.
- Kimura, K.; Toshima, S.; Amy, G.; Watanabe, Y. Rejection of neutral endocrine disrupting compounds (EDCs) and pharmaceutical active compounds (PhACs) by RO membranes. *J. Membr. Sci.*, 245, **2004**, p. 71-78.
- Klamerth, N.; Rizzo, L.; Malato, S.; Maldonado, M.I.; Agüera, A.; Fernández-Alba, A.R. Degradation of fifteen emerging contaminants at $\mu\text{g L}^{-1}$ initial concentrations by mild solar photo-Fenton in MWTP effluents. *Water Res.*, 44, **2010**, p. 545-554.
- Klavarioti, M.; Mantzavinos, D.; Kassinos, D. Removal of residual pharmaceuticals from aqueous systems by advanced oxidation processes. *Environ. Int.*, 35, **2009**, p. 402-417.
- Koh, Y.K.K.; Chiu, T.Y.; Boobis, A.; Cartmell, E.; Lester, J.N.; Scrimshaw, M.D. Determination of steroid estrogens in wastewater by high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 1173, **2007**, p. 81-87.
- Kolodziej, E.P.; Sedlak, D.L. Rangeland grazing as a source of steroid hormones to surface waters. *Environ Sci Technol*, 41, **2007**, p. 3514-3520.

- Kolok, A.S.; Snow, D.D.; Kohno, S.; Sellin, M.K.; Guillet, J.L.J. Occurrence and biological effect of exogenous steroids in the Elkhorn river, Nebraska, USA. *Sci Total Environ*, 388, **2007**, p. 104-115.
- Kormann, C.; Bahnemann, D.W.; Hoffmann, M.R. Photocatalytic production of H₂O₂ and organic peroxides in aqueous suspensions of TiO₂, ZnO, and desert sand. *Environ. Sci. Technol.*, 22, **1988**, p. 798-806.
- Kositz, M.; Poulis, I.; Malato, S.; Cáceres, J.; Campos, A. Solar photocatalytic treatment of synthetic municipal wastewater. *Water Res.*, 38, **2004**, p. 1147-1154.
- Koutantou, V.; Kostadima, M.; Chatzisympson, E.; Frontistis, Z.; Binas, V.; Venieri, D.; Mantzavinos, D. Solar photocatalytic decomposition of estrogens over immobilized zinc oxide *Catal. Today*, **2012**, <http://dx.doi.org/10.1016/j.cattod.2012.11.004>.
- Krause, H.; Schweiger, B.; Schuhmacher, J.; Scholl, S.; Steinfeld, U. Degradation of the endocrine disrupting chemicals (EDCs) carbamazepine, clofibric acid, and iopromide by corona discharge over water. *Chemosphere*, 75, **2009**, p. 163-168.
- Krýsa, J.; Jirkovský, J.; Bajt, O.; Mailhot, G. Competitive adsorption and photodegradation of salicylate and oxalate on goethite. *Catal. Today*, 161, **2011**, p. 221-227.
- Kuch, M.L.; Ballschmiter, K. Determination of endocrine-disrupting phenolic compounds and estrogens in surface and drinking water by HRGC-(NCI)-MS in the pictogram per liter range. *Environ. Sci. Technol.*, 35, **2001**, p. 3201-3206.
- Kunz, A.; Zamora, P.P.; Moraes, S.G.; Durán, N.; Novas tendências no tratamento de efluentes têxteis. *Quim. Nova*, 25, **2002**, p. 78-82.
- Kuster, M.; López de Alda, M.J.; Hernando, M.D.; Petrovic, M.; Martín-Alonso, J.; e Barceló, D. Analysis and occurrence of pharmaceuticals, estrogens, progestogens and polar pesticides in sewage treatment plant effluents, river water and drinking water in the Llobregat river basin (Barcelona, Spain). *J. Hydrol.*, 358, **2008**, p. 112-123.
- Kuster, M.; Azevedo, D.A.; López de Alda, M.J.; Aquino Neto, F.R.; Barceló, D. Analysis of phytoestrogens, progestogens and estrogens in environmental waters from Rio de Janeiro (Brazil). *Environ. Int.*, 35, **2009**, 997-1003.
- Lagana, A.; Bacaloni, A.; Leva, I.D.; Faberi, A.; Fago, G.; Marino, A. Analytical methodologies for determining the occurrence of endocrine disrupting chemicals in sewage treatment plants and natural waters. *Anal. Chim. Acta*, 501, **2004**, p. 79-88.
- Lan, Q.; Li, F.-B.; Sun, C.-X.; Liu, C.-S.; Li, X.-Z. Heterogeneous photodegradation of pentachlorophenol and iron cycling with goethite, hematite and oxalate under UVA illumination. *J. Hazard. Mater.*, 174, **2010**, p. 64-70.
- Lan, Q.; Liu, H.; Li, F.-b.; Zeng, F.; Liu, C.-s. Effect of pH on pentachlorophenol degradation in irradiated iron/oxalate systems. *Chem. Eng. J.*, 168, **2011**, p. 1209-1216.

- Larcher, S.; Delbès, G.; Robaire, B.; Yargeau, V. Degradation of 17 α -ethynylestradiol by ozonation - Identification of the by-products and assessment of their estrogenicity and toxicity. *Environ. Int.*, 39, **2012**, p. 66-72.
- Lee, J.-C.; Kim, M.-S.; Kim, B.-W. Removal of paraquat dissolved in a photoreactor with TiO₂ immobilized on the glass-tubes of UV lamps. *Water Res.*, 36, **2002**, p. 1776-1782.
- Leech, D.M.; Snyder, M.T.; Wetzel, R.G. Natural organic matter and sunlight accelerate the degradation of 17 β -estradiol in water. *Sci. Total Environ.*, 407, **2009**, p. 2087-2092.
- Li, D.; Haneda, H. Morphologies of zinc oxide particles and their effects on photocatalysis. *Chemosphere*, 51, **2003**, p. 129–137.
- Li, Y.; Zhang, F-S. Catalytic oxidation of Methyl Orange by an amorphous FeOOH catalyst developed from a high iron-containing fly ash. *Chem. Eng. J.*, 158, **2010**, p. 148-153.
- Li, W.; Nanaboina, V.; Zhou, Q.; Korshin, G.V. Effects of Fenton treatment on the properties of effluent organic matter and their relationships with the degradation of pharmaceuticals and personal care products. *Water Res.*, 46, **2012**, p. 403-412.
- Li Puma, G.; Puddu, V.; Tsang, H.K.; Gora, A.; Toepfer, B.; Photocatalytic oxidation of multicomponent mixtures of estrogens (estrone (E1), 17 β -estradiol (E2), 17 α -ethynylestradiol (EE2) and estriol (E3)) under UVA and UVC radiation: Photon absorption, quantum yields and rate constants independent of photon absorption. *Appl. Catal.*, B, 99, **2010**, p. 388–397.
- Lin, A. Y.; Reinhard, M. Photodegradation of common environmental pharmaceuticals and estrogens in river water. *Environ. Toxicol. Chem.*, 24, **2005**, p. 1303-1309.
- Lin, Y.; Peng, Z.; Zhang, X. Ozonation of estrone, estradiol, diethylstilbestrol in waters. *Desalination*, 249, **2009**, p. 235–240.
- Linden, K.G.; Rosenfeldt, E.J.; Kullman, S.W. UV/H₂O₂ degradation of endocrine-disrupting chemicals in water evaluated via toxicity assays. *Water Sci. Technol.*, 55, **2007**, p. 313-319.
- Liu, X.L.; Wu, F.; Deng, N.S. Photodegradation of 17 α -ethynylestradiol in aqueous solution exposed to a high-pressure mercury lamp (250 W). *Environ. Pollut.*, 126, **2003**, p. 393–398.
- Liu, B.; Liu, X. Direct photolysis of estrogens in aqueous solutions. *Sci. Total Environ.*, 320, **2004**, p. 269–274.
- Liu, Z.; Kanjo, Y.; Mizutani, S. Removal mechanisms for endocrine disrupting compounds (EDCs) in wastewater treatment – physical means, biodegradation, and chemical advanced oxidation: A review. *Sci. Total Environ.*, 407, **2009**, p. 731-748.
- Lizama, C.; Freer, J.; Baeza, J.; Mansilla, H.D. Optimized photodegradation of Reactive Blue 19 on TiO₂ and ZnO suspensions. *Catal. Today*, 76, **2002**, p. 235–246.

- Lopes, L.G. Estudo sobre a ocorrência de estrogênios em águas naturais e tratadas da região de Jaboticabal – SP. 2007. 121 f. Tese. (Doutor em Química). Instituto de Química. Universidade Estadual Paulista, Araraquara, **2007**.
- Lopes, L.G.; Marchi, M.R.R.; Souza, J.B.G. ; Moura, J.A. ; Cruz, C. ; Validação de método para análise de estrogênios em água superficial e tratada por dois sistemas de cromatografia líquida de alta eficiência. *Analytica*, 37, **2008**, p. 56-64.
- Lopes, L. G.; Marchi, M.R.R.; Souza, J.B.G. ; Moura, J.A. ; Lorenzon, C.S. ; Cruz, C.; Amaral, L.A. Estrogênios em águas naturais e tratadas da Região de Jaboticabal – São Paulo. *Quim. Nova*, 33, **2010**, p. 639-643.
- Lopez de Alda, M. J.; Barceló, D. Determination of steroid sex hormones and related synthetic compounds considered as endocrine disrupters in water by liquid chromatography–diode array detection–mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 892, **2000**, p. 391 –406.
- Lopez de Alda, M. J.; Barceló, D. Determination of steroid sex hormones and related synthetic compounds considered as endocrine disrupters in water by fully automated on-line solid-phase extraction–liquid chromatography – diode array detection. *J. Chromatogr., A*, 911, **2001a**, p. 203–210.
- Lopez de Alda, M. J.; Barceló, D. Use of solid-phase extraction in various of its modalities for sample preparation in the determination of estrogens and progestogens in sediment and water. *J. Chromatogr., A*, 938, **2001b**, p 145–153.
- Macedo, M.A.; Silva, M.N.B.; Cestari, A.R.; Vieira, E.F.S.; Sasaki, J.M.; Góes, J.C.; Aguiar, J.A. Chitosan-based ferrimagnetic membrane. *Physica B*, 354, **2004**, p. 171-173.
- Mai, J.; Sun, W.; Xiong, L.; Liu, Y.; Ni, J. Titanium dioxide mediated photocatalytic degradation of 17 β -estradiol in aqueous solution. *Chemosphere*, 73, **2008**, p. 600-606.
- Malato, S.; Blanco, J.; Richter, B.; Maldonado, M.I. Enhancement of rate of solar photocatalytic mineralization of organic pollutants by inorganic oxidizing species. *Appl. Catal., B*, 17, **1998**, p. 347-356.
- Malato, S.; Fernández-Ibáñez, P.; Maldonado, M.I.; Blanco, J.; Gernjak, W. Decontamination and disinfection of water by solar photocatalysis: Recent overview and trends. *Catal. Today*, 147, **2009**, p. 1-59.
- Malygina, T.; Preis, S.; Kallas, J. The role of pH in aqueous photocatalytic oxidation of β -estradiol. *Int. J. Photoenergy*, 5, **2005**, p.187-191.
- Maniero, M.G.; Bila, D.M.; Dezotti, M. Degradation and estrogenic activity removal of 17 β -estradiol and 17 α -ethinylestradiol by ozonation and O₃/H₂O₂. *Sci. Total Environ.*, 407, **2008**, p. 105–115.
- Mascolo, G.; Comparelli, R.; Curri, M.L.; Lovecchio, G.; Lopez, A.; Agostiano, A.

- Photocatalytic degradation of methyl red by TiO_2 : Comparison of the efficiency of immobilized nanoparticles versus conventional suspended catalyst. *J. Hazard. Mater.*, 142, **2007**, p. 130-137.
- Matejíček, D.; Kubán, V.; Enhancing sensitivity of liquid chromatographic/ion-trap tandem mass spectrometric determination of estrogens by on-line pre-column derivatization. *J. Chromatogr., A*, 1192, **2008**, p. 248–253.
- Mazellier, P.; Sulzberger, B. Diuron degradation in irradiated, heterogeneous iron/oxalate systems: The rate-determining step. *Environ. Sci. Technol.*, 35, **2001**, p. 3314-3320.
- Mazellier, P.; Méité, L.; Laat, J.D. Photodegradation of the steroid hormones 17β -estradiol (E_2) and 17α -ethinylestradiol (EE_2) in dilute aqueous solution. *Chemosphere*, 73, **2008**, p. 1216–1223.
- Michael, I.; Hapeshi, E.; Michael, C.; Fatta-Kassinos, D.; Solar Fenton and solar TiO_2 catalytic treatment of ofloxacin in secondary treated effluents: Evaluation of operational and kinetic parameters. *Water Res.*, 44, **2010**, p. 5450-5462.
- Miège C.; Bados, P.; Brosse, C.; Coquery, M.; Method validation for the analysis of estrogens (including conjugated compounds) in aqueous matrices. *TrAC. Trends Anal. Chem.*, 28, **2009**, p. 237-244.
- Mitamura, K.; Narukawa, H.; Mizuguchi, T.; Shimada, K. Degradation of estrogen conjugates using titanium dioxide as a photocatalyst. *Anal. Sci.*, 20, **2004**, p. 3-4.
- Mitra, S. Sample preparation techniques in analytical chemistry. John Wiley & Sons, Inc, New Jérsei: **2003**.
- Mocé-Llivina, L.; Cofre, J.; Muniesa, M. Comparison of polyvinylidene fluoride and polyether sulfone membranes in filtering viral suspensions *J. Virol. Methods*, 109, **2003**, p. 99-101.
- Molina, R.; Segura, Y.; Martinez, F.; Melero, J.A. Immobilization of active and stable goethite coated-films by a dip-coating process and its application for photo-Fenton systems. *Chem. Eng. J.*, 213, **2012**, p. 212-222.
- Montagner, C.C.; Jardim, W.F. Spatial and seasonal variations of pharmaceuticals and endocrine disruptors in the Atibaia River, São Paulo State (Brazil). *J. Braz. Chem. Soc.*, 22, **2011**, p. 1452-1462.
- Monteagudo, J.M.; Durán, A.; San Martín, I.; Aguirre, M. Effect of continuous addition of H_2O_2 and air injection on ferrioxalate-assisted solar photo-Fenton degradation of Orange II. *Appl. Catal., B*, 89, **2009**, p. 510-518.
- Monteiro Junior, O.A.C.; Airolidi, C. Some studies of crosslinking chitosan–glutaraldehyde interaction in a homogeneous system. *Int. J. Biol. Macromol.*, 26, **1999**, p. 119-128.
- Moons, K.; Van der Bruggen, B. Removal of micropollutants during drinking water production from surface water with nanofiltration. *Desalination*, 199, **2006**, p.245-247.

- Morais, J.L. Estudo da potencialidade de processos oxidativos avançados isolados e integrados com processos biológicos tradicionais, para tratamento de chorume de aterro sanitário. PR. 2005. 207 f. Tese (Doutor em Química) Departamento de Química. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.
- Morteani, G.; Moller, P.; Fuganti, A.; Paces, T. Input and fate of anthropogenic estrogens and gadolinium in surface water and sewage plants in the hydrological basin of Prague (Czech republic). *Environ. Geochem. Health*, 28, **2006**, p. 257-264.
- Mueses, M.A.; Machuca-Martinez, F.; Li Puma, G. Effective quantum yield and reaction rate model for evaluation of photocatalytic degradation of water contaminants in heterogeneous pilot-scale solar photoreactors. *Chem. Eng. J.*, 215-216, **2013**, p. 937-947.
- Munter, R. Advanced oxidation processes – current status and prospects. *Proc. Estonian. Acad. Sci. Chem.*, 50, **2001**, p. 59–80.
- Murugananthan, M.; Yoshihara, S.; Rakuma, T.; Uehara, N.; Shirakashi, T. Electrochemical degradation of 17 β -estradiol (E2) at boron-doped diamond (Si/BDD) thin film electrode. *Electrochim. Acta*, 52, **2007**, p. 3242-3249.
- Nakashima, T.; Ohko, Y.; Trik, D.A.; Fujishima, A. Decomposition of endocrine-disrupting chemicals in water by use of TiO₂ photocatalysts immobilized on polytetrafluoroethylene mesh sheets. *J. Photochem. Photobiol., A*, 151, **2002**, p. 207–212.
- Nakashima, T.; Ohko, Y.; Kubota, Y.; Fujishima, A. Photocatalytic decomposition of estrogens in aquatic environment by reciprocating immersion of TiO₂-modified polytetrafluoroethylene mesh sheets. *J. Photochem. Photobiol., A*, 160, **2003**, p. 115-120.
- Nasuhoglu, D.; Berk, D.; Yargeau, V. Photocatalytic removal of 17 α -ethinylestradiol (EE2) and levonorgestrel (LNG) from contraceptive pill manufacturing plant wastewater under UVC radiation. *Chem. Eng. J.*, 185–186, **2012**, p. 52-60.
- Navalon, S.; Alvaro, M.; Garcia, H. Heterogeneous Fenton catalysts based on clays, silicas and zeolites. *Appl. Catal., B*, 99, **2010**, p. 1–26.
- Neale, P.A.; Pronk, W.; Schäfer, A.I. Influence of pH on losses of analyte estradiol in sample prefiltration. *Environ. Eng. Sci.*, 26, **2009a**, p. 1157-1161.
- Neale, P.A.; Escher, B.I.; Schäfer, A.I. pH dependence of steroid hormone-organic matter interactions at environmental concentrations. *Sci. Total Environ.*, 407, **2009b**, p. 1164-1173.
- Ngah, W.S.W.; Ghani, S.A.; Kamari, A. Adsorption behaviour of Fe(II) and Fe(III) ions in aqueous solution on chitosan and cross-linked chitosan beads. *Bioresour. Technol.*, 96, **2005**, p. 443-450.

- Ngah, W.S.W.; Teong, L.C.; Hanafiah, M.A.K.M. Adsorption of dyes and heavy metal ions by chitosan composites: A review. *Carbohydr. Polym.*, 83, **2011**, p. 1446-1456.
- Nghiem, L.D.; McCutcheon, J.; Schäfer, A.I.; Elimelech, M. The role of endocrine disruptors in water recycling: risk or mania? *Water Sci. Technol.*, 50, **2004**, p. 215-220.
- Nieto, A.; Borrull, F.; Pocurull, E.; Marcé, R.M. Determination of natural and synthetic estrogens and their conjugates in sewage sludge by pressurized liquid extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 1213, **2008**, p. 224-230.
- Nogueira, R.F.P.; Jardim, W.F. Fotocatálise heterogênea e sua aplicação ambiental. *Quim. Nova*, 21, 1998, p.69-72.
- Nogueira, R.F.P.; Oliveira, M.C.; Paterlini, W.C. Simple e fast spectrophotometric determination of H_2O_2 in photo-Fenton reaction using metavanadate. *Talanta*, 66, **2005**, 86-91.
- Nogueira, R.F.P.; Trovó, A.G.; Silva, M.R.A.; Villa, R.D. Fundamentos e aplicações ambientais dos processos Fenton e foto-Fenton. *Quim. Nova*, 30, **2007**, p. 400-408.
- Noppe, H.; Wasch, K. D.; Poelmans, S.; Van Hoof, N.; Verslycke, T.; Jansen, C. R.; Brabander, H. F. Development and validation of an analytical method for detection of estrogens in water. *Anal. Bioanal. Chem.*, 382, **2005**, p. 91–98.
- Ohko, Y.; Iuchi, K.I.; Niwa, C.; Tatsuma, T.; Nakashima, T.; Iguchi, T.; Kubota, Y.; Fujishima, A. 17β -Estradiol degradation by TiO_2 photocatalysis as a means of reducing estrogenic activity. *Environ. Sci. Technol.*, 36, **2002**, p. 4175-7181.
- Oliveira, M.C.; Nogueira, R.F.P.; Neto, J.A.G. Sistema de Injeção em fluxo espectrofotométrico para monitorar peróxido de hidrogênio em processo de fotodegradação por reação foto-Fenton. *Quim. Nova*, 24, **2001**, p.188-190.
- Ortiz de La Plata, G.B.; Alfano, O.M.; Cassano, A.E. Optical properties of goethite catalyst for heterogeneous photo-Fenton reactions. Comparison with a titanium dioxide catalyst. *Chem. Eng. J.*, 137, **2008**, p. 396-410.
- Ortiz de La Plata, G.B.; Alfano, O.M.; Cassano, A.E. Decomposition of 2-chlorophenol employing goethite as Fenton catalyst. I. Proposal of a feasible, combined reaction scheme of heterogeneous and homogeneous reactions. *Appl. Catal.*, B, 95, **2010a**, p. 1-13.
- Ortiz de La Plata, G.B.; Alfano, O.M.; Cassano, A.E. Decomposition of 2-chlorophenol employing goethite as Fenton catalyst II: Reaction kinetics of the heterogeneous Fenton and photo-Fenton mechanisms. *Appl. Catal.*, B, 95, **2010b**, p. 14-25.
- Pailler, J.Y.; Krein, A.; Pfister, L.; Hoffmann, L.; Guignard, C. Solid phase extraction coupled to liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis of

- sulfonamides, tetracyclines, analgesics and hormones in surface water and wastewater in Luxembourg. *Sci. Total. Environ.*, 407, **2009**, p. 4736-4743.
- Pardeshi, S.K.; Patil, A.B. A simple route for photocatalytic degradation of phenol in aqueous zinc oxide suspension using solar energy. *Sol. Energy*, 82, **2008**, p. 700-705.
- Pardeshi, S.K.; Patil, A.B. Solar photocatalytic degradation of resorcinol a model endocrine disrupter in water using zinc oxide. *J. Hazard. Mater.*, 163, **2009**, p. 403-409.
- Paschoal, J.A.R.; Rath, S.; Airoidi, F.P.S.; Reyes, F.G.R. Validação de métodos cromatográficos para a determinação de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos. *Quim. Nova*, 31, **2008**, p. 1190-1198.
- Pauwels, B.; Deconinck, S.; Verstraete, W. Electrolytic removal of 17 α -ethinylestradiol (EE2) in water streams. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 81, **2006**, p. 1338-1343.
- Pedrouzo, M.; Borrull, F.; Pocurull, E.; Marcé, R.M. Estrogens and their conjugates: Determination in water samples by solid-phase extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Talanta*, 78, **2009**, p. 1327-1331.
- Pêra-Titus, M.; García-Molina, V.; Baños, M. A.; Giménez, J.; Esplugas, S.; Degradation of chlorophenols by means of advanced oxidation processes: a general review. *Appl. Catal., B*, 47, **2004**, p. 219-256.
- Peralta-Zamora, P.; Esposito, E.; Reyes, J.; Durán, N. Remediação de efluentes derivados da indústria de papel e celulose. Tratamento biológico e fotocatalítico. *Quím. Nova*, 20, **1997**, p. 186-190.
- Peralta-Zamora, P.; Moraes, S.G.; Pelegrini, R.; Freire Jr., M.; Reyes, J.; Mansilla, H.; Duran, N. Evaluation of ZnO, TiO₂ and supported ZnO on the photoassisted remediation of black liquor, cellulose and textile mill effluents. *Chemosphere*, 36, **1998**, p. 2119-2133.
- Pereira, L.C.O.; A utilização do reativo de Fenton na desinfecção de esgotos domésticos com fins de reuso na irrigação de culturas. 2006. 124f. Dissertação (Mestre em Engenharia Ambiental) - Depto de Engenharia Sanitária e do Meio Ambiente, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, **2006**.
- Pereira, R.O.; Lopez de Alda, M.; Joglar, J.; Daniel, L.A.; Barceló, D. Identification of new ozonation disinfection byproducts of 17 β -estradiol and estrone in water. *Chemosphere*, 84, **2011a**, p. 1535-1541.
- Pereira, R.O.; Postigo, C.; López de Alda, M.; Daniel, L. A.; Barceló, D. Removal of estrogens through water disinfection processes and formation of by-products. *Chemosphere*, 82, **2011b**, p. 789–799.
- Peterson, E. W.; Davis, R. K.; Orndorff, H. A. 17 β -estradiol as an indicator of animal waste contamination in mantled karst aquifers. *J. Environ. Qual.*, 29, **2000**, p. 826-834.

- Pirkanniemi, K.; Sillanpaa, M.; Heterogeneous water phase catalysis as an environmental application: a review. *Chemosphere*, 48, **2002**, p. 1047-1060.
- Pozzo, R.L.; Baltanás, M.A.; Cassano, A.E. Supported titanium oxide as photocatalyst in water decontamination: state of the art. *Catal. Today*, 39, **1997**, p. 219-231.
- PNUD – Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento. Relatório do Desenvolvimento Humano, **2006**. Disponível em www.pnud.org.br/rdh. Acessado em agosto 2009.
- Pucher, P.; Benmami, M.; Azouani, R.; Krammer, G.; Chhor, K.; Bocquet, J.-F.; Kanaev, A.V. Nano-TiO₂ sols immobilized on porous silica as new efficient photocatalyst. *Appl. Catal., A*, 332, **2007**, p. 297-303.
- Qamar, M.; Muneer, M. A comparative photocatalytic activity of titanium dioxide and zinc oxide by investigating the degradation of vanillin. *Desalination*, 249, **2009**, p. 535–540.
- Qiu, R.; Zhang, D.; Mo, Y.; Song, L.; Brewer, E.; Huang, X.; Xiong, Y. Photocatalytic activity of polymer-modified ZnO under visible light irradiation. *J. Hazard. Mater.*, 156, **2008**, p. 80-85.
- Radjenovic, J.; Sirtori, C.; Petrovic, C.; Barceló, D.; Malato, S. Solar photocatalytic degradation of persistent pharmaceuticals at pilot-scale: kinetics and characterization of major intermediate products. *Appl. Catal., B*, 89, **2009**, p. 256-264.
- Raimundo, C.C.M. Ocorrência de interferentes endócrinos e produtos farmacêuticos nas águas superficiais da bacia do rio Atibaia. 2007. 108 f. Dissertação. (Mestre em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, **2007**.
- Ranney, R.E. Comparative metabolism of 17 α -ethynyl steroids used in oral contraceptives. *J. Toxicol. Environ. Health*, 3, **1977**, p.139166.
- Rehman, S.; Ullah, R.; Butt, A.M.; Gohar, N.D. Strategies of making TiO₂ and ZnO visible light active. *J. Hazard. Mater.*, 170, **2009**, p. 560-569.
- Reis Filho, R.W.; Coutinho, A.J.; Vieira, E.M. Hormônios sexuais estrógenos: contaminantes bioativos. *Quím. Nova*, 29, **2006**, p. 817-822.
- Ribani, M.; Bottoli, C.B.G.; Collins, C.H.; Jardim, I.C.S.F.; Melo, L.F.C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. *Quim. Nova*, 27, **2004**, p. 771-780.
- Robert, F.C.; Rominder, P.S.S.; Fu, H.X. Free synthetic and natural estrogen hormones in influent and effluent of three municipal wastewater treatment plants. *Water Environ. Res.*, 79, **2007**, p. 143-153.
- Rodriguez-Mozaz, S.; Lopes de Alda, M.; Barceló, D. Picogram per liter level determination of estrogens in natural waters and waterworks by a fully automated on-line solid-phase extraction-liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry method. *Anal. Chem.* 76, **2004**, p. 6998-7006.

- Roefer, P.; Snyder, S.; Zegers, R.E.; Rexing, D.J.; Fronk, J.L. Endocrine-disrupting chemicals in a source water. *J. AWWA*, 92, **2000**, p. 52-58.
- Rosenfeldt, E.J.; Linden, K.G. Degradation of endocrine disrupting chemicals bisphenol A, ethinylestradiol, and estradiol during UV photolysis and advanced oxidation processes. *Environ. Sci. Technol.*, 38, **2004**, p. 5476-5483.
- Rosenfeldt, E.J.; Chen, P.J.; Kullman, S. Linden, K.G. Destruction of estrogenic activity in water using UV advanced oxidation. *Sci. Total Environ.*, 377, **2007**, p. 105-113.
- Rudder, J.; Wiele, T.V.; Dhooge, W.; Combaire, F.; Verstraete, W. Advanced water treatment with manganese oxide for the removal of 17 α -ethinylestradiol (EE2). *Water Res.*, 38, **2004**, p. 184-192.
- Sakthivel, S.; Neppolian, B.; Shankar, M.V.; Arabindoo, B.; Palanichamy, M.; Murugesan, V. Solar photocatalytic degradation of azo dye: comparison of photocatalytic efficiency of ZnO and TiO₂. *Sol. Energy Mater. Sol. Cells*, 77, **2003**, p. 65-82.
- Sanfilippo, K.; Pinto, P.; Colombini, M. P.; Bartolucci, U.; Reali, D. Determination of trace endocrine disruptors in ultrapure water for laboratory use by the yeast estrogen screen (YES) and chemical analysis (GC/MS). *J. Chromatogr., B*, 878, **2010**, p. 1190–1194.
- Schäfer, A.I.; Akanyeti, I.; Semião, A.J.C. Micropollutant sorption to membrane polymers: A review of mechanisms for estrogens. *Adv. Colloid Interface Sci.*, 164, **2011**, p. 100 – 117.
- Scherr, F.F.; Sarmah, A.K.; Di, H.J.; Cameron, K.C. Degradation and metabolite formation of 17 β -estradiol-3-sulphate in New Zealand pasture soils. *Environ. Int.*, 35, **2009**, p. 291-297.
- Schnitzler, D., Síntese, caracterização e propriedades de híbridos orgânico/inorgânicos formados entre a polianilina e nanopartículas de diferentes óxidos de Titânio obtidos pelo método sol-gel, PR, 2003. Dissertação (Mestrado em Química) – Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, **2003**.
- Sen, S.; Mahanthi, S.; Roy, S.; Heintz, O.; Bourgeois, S.; Chaumont, D.; Investigation on sol-gel synthesized Ag-doped TiO₂ cermet thin films. *Thin Solid Films*; 474, **2005**, 245 - 249
- Servos, M.R.; Bennie, D.T.; Burnison, B.K.; Jurkovic, A.; McInnis, R.; Neheli, T.; Schnell, A.; Seto, P.; Smyth, S.A.; Ternes, T.A.. Distribution of estrogens, 17 β -estradiol and estrone, in Canadian municipal wastewater treatment plants. *Sci. Total Environ.*, 336, **2005**, p. 155-170.
- Shafaei, A.; Nikazar, M.; Arami, M. Photocatalytic degradation of terephthalic acid using titania and zinc oxide photocatalysts: Comparative study. *Desalination*, 252, **2010**, p. 8-16.

- Shen, C.; Shen, Y.; Wen, Y.; Wang, H.; Liu, W. Fast and highly efficient removal of dyes under alkaline conditions using magnetic chitosan-Fe(III) hydrogel. *Water Res.*, 45, **2011**, p. 5200-5210.
- Shen, J.H.; Gutendorf, B.; Vahl, H.H.; Shen, L.; Westendorf, J. Toxicological profile of pollutants in surface water from an area in Taihu Lake, Yangtze Delta. *Toxicology*, 166, **2001**, p. 71-78.
- Shephard, G.S.; Stockenstrom, S.; De Villiers, D.; Engelbrecht, W.J.; Wessels, G.F.S. Degradation of microcystin toxins in a falling film photocatalytic reactor with immobilized titanium dioxide catalyst. *Water Res.*, 36, **2002**, p. 140-146.
- Shi, J.; Fujisawa, S.; Nakai, S.; Hosomi, M. Biodegradation of natural and synthetic estrogens by nitrifying activated sludge and ammonia-oxidizing bacterium *Nitrosomonas europaea*. *Water Res.*, 38, **2004**, p. 2323-2330.
- Silva, L.P. Modificação e imobilização de TiO₂ visando a degradação de compostos orgânicos poluentes via o processo de fotocatalise heterogênea. 115 f. Dissertação. (Mestre em Química) – Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, **2007**.
- Sirtori, C. Estudo da potencialidade do processo fotoeletroquímico para remediação de águas contaminadas por cianobactérias, PR, 2006. 92 f. Dissertação (Mestre em Química) – Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, **2006**.
- Sirtori, C.; Altvater, P.K.; Freitas, A.M.; Peralta-Zamora, P.G. Degradation of aqueous solutions of camphor by heterogeneous photocatalysis. *J. Hazard. Mater.*, B129, **2006**, p. 110-115.
- Sirtori, C.; Freitas, A. M.; Fujiwara, S.T.; Peralta-Zamora, P. Photocatalytic degradation of Camphor by suspended and immobilized photocatalysts. *J. Braz. Chem. Soc.*, 23, **2012**, p. 1563-1569.
- Skoog, D.A.; West, D.M.; Holler, F.J.; Crouch, S.R. Fundamentos de Química Analítica 8ª edição. São Paulo, SP: Thomson Learning, **2006**.
- Snyder, S.A.; Keith, T.L.; Verbrugge, D.A.; Snyder, E.M.; Gross, T.S.; Kannan, K.; Giesy, J.P. Analytical methods for detection of selected estrogenic compounds in aqueous mixtures. *Environ. Sci. Technol.*, 33, **1999**, p. 2814-2820.
- Snyder, S. A.; Adham, S.; Redding, A. M.; Cannon, F. S.; DeCarolis, J.; Oppenheimer J.; Wert, E. C.; Yoon, Y. Role of membranes and activated carbon in the removal of endocrine disruptors and pharmaceuticals. *Desalination*, 202, **2007**, p. 156-181.
- Sodré, F.F.; Montagner, C.C.; Locatelli, M.A.F.; Jardim, W.F. Ocorrência de interferentes endócrinos e produtos farmacêuticos em águas superficiais da região de Campinas (SP, Brasil). *J. Braz. Soc. Ecotoxicol.*, 2, **2007a**, p. 187-196.

- Sodré, F.F.; Montagner, C.C.; Locatelli, M.A.F.; Jardim, W.F. Origem e destino de interferentes endócrinos em águas naturais. Caderno temático vol. 6. Universidade Estadual de Campinas, Unicamp: **2007b**.
- Sodré, F.F.; Pescara, I.C.; Montagner, C.C.; Jardim, W.F. Assessing selected estrogens and xenoestrogens in Brazilian surface waters by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Microchem. J.*, 96, **2010a**, p. 92–98.
- Sodré, F.F.; Locatelli, M.A.F.; Jardim, W.F. Occurrence of emerging contaminants in Brazilian drinking waters: a sewage-to-tap issue. *Water Air Soil Pollut.*, 206, **2010b**, p. 57–67.
- Soon, A.N.; Hameed, B.H. Heterogeneous catalytic treatment of synthetic dyes in aqueous media using Fenton and photo-assisted Fenton process. *Desalination*, 269, **2011**, p. 1-16.
- Souissi, Y.; Bourcier, S.; Bouchonnet, S.; Genty, C.; Sablier, M. Estrone direct photolysis: by-product identification using LC-Q-TOF. *Chemosphere*, 87, **2012**, p. 185-193.
- Souza, K.V. Desenvolvimento de espécies de ferro imobilizadas em matrizes poliméricas e sua utilização na remediação de resíduos industriais. Curitiba: UFPR, 2009. 167 p. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, **2009**.
- Souza, K.V.; Zamora, P.G.P.; Zawadzki, S.F. Esferas de quitosana/Fe na degradação do corante azul QR-19 por processos foto-Fenton utilizando luz artificial ou solar. *Polímeros*, 20, **2010**, p. 210-214.
- Stumpf, M.; Ternes, T.A.; Wilken, R-D.; Rodrigues, S.V.; Baumann, W. Polar drug residues in sewage and natural waters in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Sci. Total Environ.*, 225, **1999**, p. 135-141.
- Sun, L.; Yong, W.; Chu, X.; Lin, J-M. Simultaneous determination of 15 steroidal oral contraceptives in water using solid-phase disk extraction followed by high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr., A*, 1216, **2009**, p. 5416–5423.
- Sun, W.; Li, S.; Mai, J.; Ni, J. Initial photocatalytic degradation intermediates/pathways of 17 α -ethynylestradiol: Effect of pH and methanol. *Chemosphere*, 81, **2010**, p. 92–99.
- Svenson, A.; Allard, A.S.; Ek, M. Removal of estrogenicity in Swedish municipal sewage treatment plants. *Water Res.*, 37, **2003**, p. 4433-4443.
- Swartz, C.H.; Reddy, S.; Benotti, M.J.; Yin, H.; Barber, L.B.; Brownawell B.J.; Rudel, R.A. Steroid estrogens, nonylphenol ethoxylate metabolites, and other wastewater contaminants in groundwater affected by a residential septic system on Cape Cod, MA. *Environ. Sci. Technol.*, 40, **2006**, p. 4894-4902.

- Tan, B. L.; Harker, D. W.; Muller, J. F.; Leusch, F. D.; Tremblay, L. A.; Chapman, H. F. Modelling of the fate of selected endocrine disruptors in a municipal wastewater treatment plant in South east Queensland, Australia. *Chemosphere*, 69, **2007**, p. 644-654.
- Tanizaki, T.; Kadokami, K.; Shinohara, R. Catalytic photodegradation of endocrine disrupting chemicals using titanium dioxide photoconductor thin films. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 68, **2002**, p. 732-739.
- Ternes, T. A.; Stumpf, M.; Mueller, J.; Haberer, K.; Wilken, R. D.; Servos, M. Behavior and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants – Investigations in Germany, Canada and Brazil. *Sci. Total Environ.*, 225, 81, **1999**, p. 81-90.
- Ternes, T.A.; Stuber, J.; Herrmann, N.; McDowell, D.; Ried, A.; Kampmann, M.; Teiser, B. Ozonation: a tool for removal of pharmaceuticals, contrast media and musk fragrances from wastewater? *Water Res.*, 37, **2003**, p. 1976-1982.
- Thomas, J. A. Drugs and chemicals that affect the endocrine system. *Int. J. Toxicol.* 17, **1998**, p. 129-138.
- Thompson, M.; Elisson, S.L.R.; Wood, R. International Union of Pure and Applied Chemistry. Harmonized Guidelines for Single Laboratory Validation of Methods of Analysis. *Pure Appl. Chem.*, 74, **2002**, p. 835–855.
- Tiburtius, E.R.L. Desenvolvimento de processos oxidativos avançados fundamentados em sistemas Fenton para remediação de sítios contaminados por hidrocarbonetos de petróleo. Curitiba: UFPR, 2008. 143 p. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, **2008**.
- Torres, N.H. Monitoração de resíduos dos hormônios 17 α -etinilestradiol, 17 β -estradiol e estriol em águas de abastecimento urbano da cidade de Piracicaba, SP. 2009. 83 f. Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de concentração: Química na Agricultura e no Ambiente). Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo, São Paulo, **2009**.
- Trudeau, V.L.; Heyne, B.; Blais, J.M.; Temussi, T.; Atkinson, S.K.; Pakdel, F.; Popescu, J.T.; Marlatt, V.L.; Scaiano, J.C.; Previtera, L.; Lean, D.R.S. Lumiestrone is photochemically derived from estrone and may be released to the environment without detection. *Frontiers in Endocrinology: Experimental Endocrinology*, 2, **2011**, p.1-13.
- US-FDA-Guidance for Industry Bioanalytical Method Validation. **2001**.
- Veras, D.F. Remoção dos perturbadores endócrinos 17 β -estradiol e p-nonilfenol por diferentes tipos de carvão ativado em pó (CAP) produzidos no Brasil – Avaliação em escala de bancada. 2006. 139 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos). Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Brasília, Brasília, **2006**.

- Verbinenn, R.T.; Nunes, G.S.; Vieira, E.M. Determinação de hormônios estrógenos em água potável usando CLAE-DAD. *Quim. Nova*, 33, **2010**, p. 1837-1842.
- Vethaak, A.D.; Lahr, J.; Schrap, S.M.; Belfroid, A.C.; Rijs, G.B.; Gerritsen, A. An integrated assessment of estrogenic contamination and biological effects in the aquatic environment of the Netherlands. *Chemosphere*, 59, **2005**, p. 511-524.
- Vilar, V.J.P.; Silva, T.F.C.V.; Santos, M.A.N.; Fonseca, A.; Saraiva, I.; Boaventura, R.A.R. Evaluation of solar photo-Fenton parameters on the pre-oxidation of leachates from a sanitary landfill. *Solar Energy*, 86, **2012**, p. 3301–3315.
- Wang, L.; Cai, Y.Q.; He, B.; Yuan, C.G.; Shen, D.Z.; Shao, J.; Jiang, G.B. Determination of estrogens in water by HPLC–UV using cloud point extraction. *Talanta*, 70, **2006**, p. 47-51.
- Wang, S.; Wang, Y.; Huang, W.; Fang, G.; Duan, Z.; Qiao, H.; Zhang, Y. Development of a solid-phase extraction-enzyme-linked immunosorbent assay method with a new sorbent of multiwall carbon nanotube for the determination of estrone in water. *Anal. Lett.*, 40, **2007**, p. 2338–2350.
- Wang, S.; Huang, W.; Fang, g.; He, J.; Zhang, Y. On-line coupling of solid-phase extraction to high-performance liquid chromatography for determination of estrogens in environment. *Anal. Chim. Acta*, 606, **2008**, p. 194-201.
- Wang, X.; Liu, Y.; Hu, Z.; Chen, Y.; Liu, W.; Zhao, G. Degradation of methyl orange by composite photocatalysts nano-TiO₂ immobilized on activated carbons of different porosities. *J. Hazard. Mater.*, 169, **2009**, p. 1061-1067.
- Westerhoff, P.; Yoon, Y.; Snyder, S.; Wert, E.; Fate of endocrine-disruptor, pharmaceutical, and personal care product chemicals during simulated drinking water treatment processes. *Environ. Sci. Technol.*, 39, **2005**, p. 6649-6663.
- Wen, Y.; Zhou, B.; Xu, Y.; Jin, S.; Feng, Y. Analysis of estrogens in environmental waters using polymer monolith in-polyether ether ketone tube solid-phase microextraction combined with high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*, 1133, **2006**, p. 21-28.
- Whidbey, C.M.; Daumit, K.E.; Nguyen, T-H.; Ashworth, D.D.; Davis, J.C.C.; Latch, D.E. Photochemical induced changes of in vitro estrogenic activity of steroid hormones. *Water Res.*, 46, **2012**, p. 5287-5296.
- Wicks C, Kelley C, Peterson E. Estrogen in a karstic aquifer ground water. *Ground Water*, 42, **2004**, p. 384-389.
- Wong, C.C.; Chu, W. The direct photolysis and photocatalytic degradation of alachlor at different TiO₂ and UV sources. *Chemosphere*, 50, **2003**, p. 981–987.
- Xiao, X.Y.; McCalley, D.V.; McEvoy, J. Analysis of estrogens in river water and effluents using solid-phase extraction and gas chromatography–negative chemical ionisation

- mass spectrometry of the pentafluorobenzoyl derivatives. *J. Chromatogr., A*, 923, **2001**, p. 195-204.
- Xu, Y.X.; Kim, K.M.; Hanna, M.A.; Nag, D. Chitosan–starch composite film: preparation and characterization. *Ind. Crops Prod.*, 21, **2005**, p. 185-192.
- Xu, Q.; Wu, S.-Y.; Wang, M.; Yin, X.-Y.; Wen, Z.-Y.; Ge, W.-N.; Gu, Z.-Z. Electrospun nylon 6 nanofibrous membrane as SPE adsorbent for the enrichment and determination of three estrogens in environmental water samples. *Chromatographia*, 71, **2010**, 487-492.
- Yeber, M.C.; Rodríguez, J.; Freer, J.; Durán, N.; Mansilla, H.D. Photocatalytic degradation of cellulose bleaching effluent by supported TiO₂ and ZnO. *Chemosphere*, 41, **2000**, p. 1193-1197.
- Yeber, M. C.; Freer, J.; Baeza, J.; Mansilla, H. D.; Advanced wastewater treatment, recycling and reuse. 2^o International Conference, Milano, **1998**
- Ying, G.G.; Kookana, R.S.; Kumar, A.; Mortimer, M. Occurrence and implications of estrogens and xenoestrogens in sewage effluents and receiving waters from South East Queensland. *Sci. Total Environ.*, 407, **2009**, p. 5147-5155.
- Yoon, Y.; Westerhoff, P.; Snyder, S.A.; Wert, E.C.; YOON, J. Removal of endocrine disrupting compounds and pharmaceuticals by nanofiltration and ultrafiltration membranes. *Desalination* 202, **2006**, p. 16-23.
- Yuranova, T.; Enea, O.; Mielczarski, E.; Mielczarski, J.; Albers, P.; Kiwi, J. Fenton immobilized photo-assisted catalysis through a Fe/C structured fabric. *Appl. Catal., B*, 49, **2004**, p. 39-50.
- Zapata, A.; Oller, I.; Rizzo, L.; Hilgert, S.; Maldonado, M.I.; Sánchez-Pérez, J.A.; Malato, S. Evaluation of operating parameters involved in solar photo-Fenton treatment of wastewater: Interdependence of initial pollutant concentration, temperature and iron concentration. *Appl. Catal., B*, 97, **2010**, p. 292-298.
- Zhang, Y. P.; Zhou, J. L. Removal of estrone and 17 β -estradiol from water by adsorption. *Water Res.*, 39, **2005**, p. 3991-4003.
- Zhang, Y.; Zhou, J.L; Ning, B. Photodegradation of estrone and 17 β -estradiol in water. *Water Res.*, 41, **2007**, p. 19-26.
- Zhang, Y.; Zhou, J.L; Occurrence and removal of endocrine disrupting chemicals in wastewater. *Chemosphere*, 73, **2008**, p. 848-853.
- Zhang, Z.; Feng, Y.; Liu, Y.; Sun, Q.; Gao, P.; Ren, N. Kinetic degradation model and estrogenicity changes of EE2 (17 α -ethinylestradiol) in aqueous solution by UV and UV/H₂O₂ technology. *J. Hazard. Mater.*, 181, **2010**, p. 1127-1133.

- Zhang, W.; Li, Y.; Su, Y.; Mao, K.; Wang, Q. Effect of water composition on TiO₂ photocatalytic removal of endocrine disrupting compounds (EDCs) and estrogenic activity from secondary effluent. *J. Hazard. Mater.*, 215-216, **2012**, p. 252-258.
- Zhao, L.; Lin, J.M.; Li, Z.; Ying, X.; Development of a highly sensitive, second antibody format chemiluminescence enzyme immunoassay for the determination of 17 β -estradiol in wastewater. *Anal. Chim. Acta*, 558, **2006**, p. 290–295.
- Zhao, Y.; Hu, J. Photo-Fenton degradation of 17 β -estradiol in presence of α -FeOOH and H₂O₂. *Appl. Catal., B*, 78, **2008**, p. 250-258.
- Zhao, Y.; Hu, J. Jin, W. Transformation of oxidation products and reduction of estrogenic activity of 17 β -estradiol by a heterogeneous photo-Fenton reaction. *Environ. Sci. Technol.*, 42, **2008**, p. 5277-5284.
- Zhao, Y.; Huang, M.; Ge, M.; Tang, X.; Liu, L. Influence factor of 17 β -estradiol photodegradation by heterogeneous Fenton reaction. *J. Environ. Monit.*, 12, **2010a**, p. 271-279.
- Zhao, Y.; Hu, J.; Hongbin, Chen, H.; Elimination of estrogen and its estrogenicity by heterogeneous photo-Fenton catalyst β -FeOOH/resin. *J. Photochem. Photobiol., A*, 212, **2010b**, p. 94–100.
- Zheng, M.; Wang, L.; Bi, Y.; Liu, F. Improved method for analyzing the degradation of estrogens in water by solid-phase extraction coupled with ultra performance liquid chromatography-ultraviolet detection. *J. Environ. Sci.*, 23, **2011**, p. 693-698.
- Zorita, S.; Mårtensson, L.; Mathiasson, L. Occurrence and removal of pharmaceuticals in a municipal sewage treatment system in the south of Sweden. *Sci. Total Environ.*, 407, **2009**, p. 2760-2770.
- Zuo, Y.; Hoigne, J. Formation of hydrogen peroxide and depletion of oxalic acid in atmospheric water by photolysis of iron(III)-oxalato complexes. *Environ. Sci. Technol.*, 26, **1992**, p. 1014-1022.
- Zuo, Y.; Hoigne, J. Evidence for photochemical formation of H₂O₂ and oxidation of SO₂ in authentic fog water. *Science*, 260, **1993**, p. 71-73.